

OPTIMASI KOMPOSISI MEDIA UNTUK MIKROPROPAGASI TANAMAN KUPA (*Syzygium polycephalum* (Miq.) Merr. & L.M Perry)

OPTIMIZATION OF MEDIA COMPOSITION TO MICROPROPAGATION OF KUPA (*Syzygium polycephalum* (Miq.) Merr. & L.M Perry)

Muhamad Ayi Pandu Perdana¹, Diah Ratnadewi^{1*}, Tri Muji Ermayanti²

¹ Program Studi Biologi Tumbuhan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Jalan Raya Dramaga, 16680 Bogor

² Pusat Riset Rekayasa Genetika, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Jalan Raya Cibinong Km 46, Bogor

*Korespondensi : dratnadewi@apps.ipb.ac.id

Diterima : 28 Oktober 2022 / Disetujui : 12 Desember 2022

ABSTRAK

Kupa (*Syzygium polycephalum* (Miq.) Merr. & L.M Perry) merupakan tanaman berkayu yang dapat dijadikan sebagai bahan obat dan zat pewarna. Kupa sudah jarang ditemukan di beberapa wilayah Indonesia, oleh karena itu diperlukan upaya konservasi. Kultur jaringan adalah salah satu teknik yang dapat diaplikasikan untuk perbanyakan tanaman dan konservasi. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan komposisi media yang optimum untuk mikropropagasi kupa. Penelitian terdiri atas 3 tahap percobaan, yaitu multiplikasi tunas menggunakan eksplan buku tunggal dan tunas pucuk pada media dasar DKW dan MS, yang mengandung BAP dan IBA; perakaran menggunakan substrat agar atau campuran pasir + vermikulit, ditambah larutan DKW atau MS, dan IBA; dan aklimatisasi. Semua percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial. Hasil penelitian menunjukkan bahwa media MS + BAP 1 mg L⁻¹ + IBA 0,1 mg L⁻¹ merupakan media terbaik untuk perbanyakan dan tinggi tunas dari eksplan buku tunggal. Tunas terbanyak dari eksplan tunas pucuk didapatkan dari media DKW + BAP 1 mg L⁻¹ + IBA 0,1 mg L⁻¹. Media Pasir + Vermikulit dengan larutan MS maupun DKW memberikan 100% tunas berakar. Planlet yang berasal dari media pasir + vermikulit dengan pemberian larutan MS menghasilkan jumlah dan panjang akar lebih baik, dan daya hidup tertinggi pada tahap aklimatisasi.

Kata Kunci: kultur jaringan, perakaran, substrat agar, substrat pasir, vermikulit

ABSTRACT

Kupa (*Syzygium polycephalum* (Miq.) Merr. & L.M Perry) is a woody plant, which has many benefits including herbal medicine and coloring matter. Kupa is rarely found in some parts of Indonesia, therefore the conservation is needed. Tissue culture is a technique applied for

propagation and conservation. This study aimed to obtain the optimal media composition for kupa micropropagation. The study consisted of 3 steps, *i.e.* shoot multiplication using single node and shoot tips explants cultured in basic media DKW and MS containing BAP and IBA; rooting in two different substrates, agar and a mixture of vermiculite + sand, enriched with DKW or MS solution, and IBA; and acclimatization. All experiments used a factorial completely randomized design. The results showed that MS +BAP 1 mg L⁻¹ + IBA 0.1 mg L⁻¹ was the best for shoot multiplication and shoot height from single node explants. Media of DKW + BAP 1 mg L⁻¹ + IBA 0.1 mg L⁻¹ was the best for multi-shoots from shoot tip explant. Sand + vermiculite media with MS or DKW solution produced 100% rooted-plantlets. Plantlets derived from sand + vermiculite with MS solution gave the best root number and length, and it also the highest survival rate at the acclimatization stage.

Keywords: agar substrate, rooting, sand substrate, tissue culture, vermiculite.

PENDAHULUAN

Kupa (*Syzygium polycephalum* (Miq.) Merr. & L.M Perry) termasuk ke dalam famili Myrtaceae, yang mempunyai banyak manfaat. Kayunya dapat digunakan sebagai bahan bangunan rumah, daunnya dapat digunakan sebagai bumbu masakan, penghasil minyak atsiri, dan berkhasiat sebagai obat untuk menurunkan tekanan darah (Solikin, 2010; Irnawati *et al.*, 2017). Buah kupa mengandung antosianin, antioksidan, dan dapat dimanfaatkan sebagai zat pewarna (Ragasa *et al.*, 2014).

Di Indonesia kupa merupakan tanaman buah minor yang dapat ditemukan di beberapa daerah, seperti di Kalimantan dan Jawa. Di Jawa Timur, kupa dapat ditemukan di daerah Malang dan Ngawi, namun populasinya sudah sangat sedikit (Solikin, 2010; Lestari *et al.*, 2017), di Indramayu (Jawa Barat) tanaman ini masih bisa ditemukan, tetapi jumlahnya sangat terbatas (Heriyanto & Hendra, 2020).

Kupa merupakan tanaman berkayu yang tumbuh sangat lambat. Tanaman ini biasa diperbanyak dengan cara generatif melalui biji, dan vegetatif dengan stek, cangkok, okulasi, dan sambung batang (Roselinda *et al.*, 2022). Biji kupa bersifat rekalsitran,

sedangkan pertumbuhan bahan vegetatifnya memerlukan waktu yang sangat lama. Metode alternatif untuk memperbanyak tanaman adalah dengan kultur jaringan (mikropropagasi). Mikropropagasi juga bermanfaat untuk tujuan konservasi (Dwiyani & Rindang, 2015). Tahapan mikropropagasi diawali dengan multiplikasi tunas, dilanjutkan dengan tahap perakaran, kemudian aklimatisasi (Carra *et al.*, 2019).

Optimasi komposisi media merupakan salah satu faktor penting yang menentukan keberhasilan mikropropagasi. Seleksi jenis media dasar, jenis dan konsentrasi serta kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) diperlukan untuk mendapatkan komposisi media optimal bagi pertumbuhan eksplan (Jagiełło-Kubiec *et al.*, 2021). Media dasar DKW (Driver & Kuniyuki, 1984) dan MS (Murashige & Skoog, 1962) merupakan dua jenis media dasar yang telah banyak digunakan pada kultur jaringan tanaman berkayu, seperti pada tanaman *Crataegus aronia* (Nas *et al.*, 2012) dan *Prunus armenica* (Khafri *et al.*, 2020). Kedua jenis media dasar ini mengandung garam-garam mineral yang cukup lengkap untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Media dasar MS

mengandung senyawa makro NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^- , SO_4^- , K^+ , Mg^+ , Ca^+ , Cl^- , Fe^{++} , Na^+ dan senyawa mikro B^{+++} , Co^{++} , Cu^{++} , I^- , Mn^{++} , MoO_4^- , Zn^{++} . Media MS tidak memiliki unsur Ni^+ dalam senyawa mikronya, tidak seperti media DKW. Media DKW mengandung konsentrasi ion lebih rendah dibandingkan dengan MS, media ini terdiri dari unsur makro NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^- , SO_4^- , K^+ , Mg^+ , Ca^+ , Cl^- , Fe^{++} , Na^+ dan senyawa mikro B^{+++} , Cu^{++} , Mn^{++} , MoO_4^- , Zn^{++} , Ni^+ . Media DKW tidak mengandung unsur mikro Co^{++} dan I^- seperti yang dimiliki media MS (Barney *et al.*, 2007; Bell *et al.*, 2009).

Sitokinin *Benzil Amino Purin* (BAP) dan auksin *Indole Butyric Acid* (IBA) merupakan ZPT yang umum digunakan dalam kultur jaringan dan telah berhasil dalam mikropropagasi banyak jenis tanaman, di antaranya *Prunus salicina* (Kassaye & Berhanu, 2015), dan *Tribulus terrestris* (Samanhudi *et al.*, 2021). Sitokinin berfungsi memacu pembelahan sel dan pertumbuhan tanaman secara umum, memicu perkecambahan benih, berperan dalam diferensiasi, serta menunda penuaan (senesen) pada tanaman (Asra *et al.*, 2020); sedangkan auksin berfungsi menginduksi kalus, menghambat aktivitas sitokinin dalam pembentukan klorofil selama proses embriogenesis, mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman (Indah dan Dini 2013; Muliati *et al.*, 2017). Kombinasi auksin dan sitokinin mampu membuat konsentrasi hormon endogen meningkat; karena itu keduanya merupakan faktor pemicu dalam proses pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman (Mahdi *et al.*, 2015).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan komposisi media terbaik dalam mikropropagasi kupa. Oleh karena itu, optimasi komposisi media dilakukan

dengan seleksi jenis media dasar yang dikombinasikan dengan ZPT untuk mendapatkan media terbaik pada tahap multiplikasi tunas, perakaran dan aklimatisasi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Ekologi dan Sumber Daya Tumbuhan, serta Fisiologi dan Genetika Tumbuhan, Departemen Biologi, FMIPA IPB, pada bulan Agustus 2020 – April 2022. Penelitian menggunakan eksplan buku tunggal dan tunas pucuk dari kultur tunas steril kupa koleksi Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Kerjasama dengan PT Astra Internasional, Tbk. Kultur steril tersebut dipelihara dalam media dasar MS atau DKW dengan 2 mg L^{-1} BAP.

Penelitian terdiri atas tiga tahap. Tahap pertama adalah multiplikasi tunas yang menggunakan eksplan buku tunggal dan tunas pucuk steril dari kultur tunas kupa yang berumur 3 bulan. Penelitian menggunakan eksplan buku tunggal dan tunas pucuk dilakukan secara terpisah. Buku tunggal dan tunas pucuk dipotong dengan ukuran 0,5-1,0 cm dari tunas *in vitro* yang telah mencapai panjang 6-8 cm. Eksplan dikulturkan pada media dasar DKW atau MS ditambah dengan BAP 0; 0,5; 1,0; 2,0 dan 4,0 mg L^{-1} yang dikombinasikan dengan IBA 0; 0,1 dan 0,5 mg L^{-1} . Pada media ditambahkan sukrosa 30 g L^{-1} dan agar 7 g L^{-1} serta pH media 5,8. Media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C , tekanan 15 psi selama 15 menit. Setiap perlakuan mempunyai 15 ulangan untuk eksplan buku tunggal dan 5 ulangan untuk eksplan tunas pucuk yang setiap botolnya berisikan tiga eksplan.

Pengamatan dilakukan terhadap persentase eksplan yang bertunas, diamati setiap minggu hingga kultur berumur 14 MST (Minggu Setelah Tanam). Jumlah tunas, tinggi tunas, bobot basah dan bobot kering diamati pada minggu ke-14 MST. Pada eksplan buku tunggal dihitung jumlah tunas baru yang tumbuh, sedangkan pada eksplan tunas pucuk dihitung pertambahan jumlah tunasnya karena saat ditanam eksplan tunas pucuk sudah memiliki tunas.

Tahap kedua adalah induksi perakaran dan pengamatan histologi. Pada tahap ini tunas steril dari kultur stok, berumur 3 bulan, dipotong 2-3 cm dengan menyertakan 4-6 helai daun. Pengakaran tunas dilakukan menggunakan media agar atau media beraerasi, yaitu campuran steril pasir dengan vermikulit (1:1), yang diperkaya dengan larutan nutrisi MS atau DKW, yang mengandung IBA 0; 0,5 dan 1,0 mg L⁻¹ tanpa sukrosa. Setiap perlakuan mempunyai 8 ulangan. Jumlah akar, panjang akar dan pertambahan jumlah daun diamati pada 12 MST.

Pembuatan sayatan mikroskopis dilakukan secara transversal pada bagian pangkal batang tunas tidak berakar dan berakar, pada tunas umur 12 MST, masing-masing diambil 12 sampel yang mewakili kedua kondisi perakaran tersebut, dengan tidak membedakan asal eksplannya. Sayatan dibuat setipis mungkin menggunakan silet. Preparat diwarnai dengan kalium iodida 6% selama 2-3 menit. Preparat diamati dan difoto menggunakan mikroskop cahaya majemuk (Olympus CX33) dengan kamera Indomikro HDMI dengan perbesaran 100x. Sebaran pati yang terlihat pada sayatan transversal tunas tidak berakar dibandingkan dengan tunas berakar (planlet).

Tahap ketiga adalah aklimatisasi planlet hasil dari tahap 2 di usia 12 minggu. Sebanyak 7 planlet dari masing-masing perlakuan percobaan perakaran diaklimatisasi. Aklimatisasi diawali dengan pencucian planlet dengan air kran, lalu akar diolesi dengan pasta zat perangsang pertumbuhan akar *Root up*. Setelah itu, planlet ditanam dalam *polybag* yang telah diisi media campuran tanah, *cocopeat* dan sekam bakar (1:1:1) yang sudah disterilisasi dengan autoklaf. Setelah ditanam, planlet ditempatkan di tempat yang teduh, *polybag* disungkup menggunakan plastik bening selama 4 minggu, sambil sungkup plastik dibuka secara bertahap. Pengamatan terhadap persentase planlet yang bertahan hidup dilakukan pada 6 MST.

Semua eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial. Faktor pertama pada eksperimen multiplikasi tunas adalah jenis media dasar (DKW dan MS), sedangkan faktor kedua adalah kombinasi konsentrasi BAP dan IBA. Faktor pertama pada percobaan induksi perakaran adalah jenis media (agar + DKW, agar + MS, pasir + vermikulit + DKW dan pasir + vermikulit + MS), sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi IBA. Rancangan percobaan yang digunakan pada tahap aklimatisasi mengikuti rancangan percobaan pada tahap pengakaran.

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan sidik ragam (Analysis of variance, ANOVA) Apabila berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjut DMRT (Duncan's Multiple Range Test) pada $\alpha = 5\%$ dilakukan dengan menggunakan program R versi 1.2.5033.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi komposisi media untuk mikropropagasi tanaman kupa telah berhasil dilakukan.

Multiplikasi Tunas

Persentase terbentuknya tunas kupa, pada eksplan buku tunggal mencapai 100% dengan waktu yang bervariasi, yaitu antara

1 sampai 8 MST pada media multiplikasi tunas (Gambar 1). Namun, kemunculan tunas pada media MS lebih cepat dibandingkan pada media DKW. Persentase tunas pada media MS pun telah mencapai 100% pada minggu ke-5 setelah tanam, dibandingkan pada minggu ke-8 pada media DKW.



Keterangan: *Color key* menunjukkan persentase tunas tumbuh setiap minggu.

Gambar 1. *Heatmap* persentase terbentuknya tunas kupa (*S. polycephalum*) dari eksplan buku tunggal pada 1-14 MST



Keterangan: *Color key* menunjukkan persentase tunas tumbuh setiap minggu.

Gambar 2. *Heatmap* persentase terbentuknya tunas kupa (*S. polycephalum*) dari eksplan tunas pucuk pada 1-14 MST

Kecepatan dan persentase terbentuknya tunas baru pada eksplan tunas pucuk menunjukkan bahwa media dasar MS juga lebih baik dibandingkan dengan media DKW (Gambar 2). Pada

media MS, terbentuknya tunas mencapai 100% pada 8 MST, namun pada media DKW tidak mencapai 100% hingga 14 MST, utamanya pada media DKW tanpa BAP dan IBA 0-0,5 mg L⁻¹.

Tabel 1. Pengaruh jenis media dasar dengan konsentrasi BAP dan IBA terhadap jumlah tunas, jumlah daun dan tinggi tunas dari eksplan buku tunggal kupa (*S. polycephalum*) umur 14 MST

Media Dasar	Perlakuan		Jumlah Tunas	Jumlah Daun (helai)	Tinggi Tunas (cm)
	BAP (mg L ⁻¹)	IBA (mg L ⁻¹)			
DKW	0	0	2,00±0,00 ^k	14,87±1,17 ^{ijk}	1,71±0,12 ^{defg}
	0	0,1	2,00±0,00 ^k	11,93±1,39 ^{ijkl}	2,56±0,33 ^{ab}
	0	0,5	2,00±0,00 ^k	10,47±1,29 ^{kl}	1,37±0,26 ^{fghi}
	0,5	0	3,07±0,33 ^{jk}	24,33±2,07 ^{ghi}	2,20±0,18 ^{abcd}
	0,5	0,1	5,40±0,38 ^{ef}	41,47±2,68 ^{abcd}	2,61±0,18 ^a
	0,5	0,5	4,93±0,54 ^{efgh}	36,13±3,14 ^{bcdef}	2,58±0,22 ^{ab}
	1	0	6,00±0,47 ^{de}	36,40±2,46 ^{bcdef}	2,49±0,18 ^{abc}
	1	0,1	7,73±0,66 ^{bc}	42,40±2,34 ^{abc}	2,75±0,21 ^a
	1	0,5	5,60±0,13 ^{ef}	50,60±4,53 ^a	2,61±0,27 ^a
	2	0	6,87±0,26 ^{cd}	41,07±3,62 ^{abcd}	2,49±0,19 ^{abc}
	2	0,1	8,00±0,49 ^{bc}	44,27±4,13 ^{ab}	1,81±0,19 ^{defg}
	2	0,5	3,93±0,52 ^{hij}	37,40±2,79 ^{bcde}	1,43±0,12 ^{efghi}
	4	0	5,20±0,38 ^{efg}	31,73±4,76 ^{defg}	1,24±0,14 ^{ghi}
	4	0,1	4,40±0,49 ^{fghi}	21,47±2,54 ^{hij}	1,15±0,09 ^{hi}
	4	0,5	3,40±0,40 ^{ij}	15,27±2,02 ^{ijk}	1,26±0,11 ^{ghi}
	MS	0	0	2,00±0,00 ^k	8,60±1,21 ^{kl}
0		0,1	2,00±0,00 ^k	3,60±1,39 ^l	0,99±0,12 ⁱ
0		0,5	3,53±0,61 ^{ij}	9,93±4,13 ^{kl}	1,21±0,19 ^{ghi}
0,5		0	7,80±0,51 ^{bc}	26,80±2,24 ^{fgh}	2,00±0,18 ^{bcde}
0,5		0,1	7,67±0,29 ^{bc}	32,13±2,82 ^{cdefg}	1,95±0,23 ^{cdef}
0,5		0,5	3,40±0,47 ^{ij}	9,07±2,32 ^{kl}	1,69±0,24 ^{defgh}
1		0	8,33±0,59 ^{ab}	36,40±3,64 ^{bcdef}	1,93±0,15 ^{cdef}
1		0,1	9,40±0,32 ^a	40,27±3,43 ^{bcd}	2,57±0,21 ^{ab}
1		0,5	8,13±0,61 ^{bc}	34,93±6,62 ^{bcdef}	2,48±0,29 ^{abc}
2		0	8,27±0,46 ^{ab}	28,40±2,81 ^{efgh}	1,67±0,12 ^{defghi}
2		0,1	8,13±0,31 ^{bc}	34,53±4,49 ^{bcdef}	1,53±0,10 ^{efghi}
2		0,5	4,07±0,53 ^{ghij}	15,00±0,94 ^{ijk}	1,22±0,09 ^{ghi}
4		0	2,00±0,00 ^k	15,87±2,59 ^{ijk}	1,29±0,06 ^{ghi}
4		0,1	5,80±0,24 ^{de}	15,00±3,36 ^{ijk}	1,17±0,05 ^{hi}
4		0,5	2,00±0,00 ^k	3,67±1,47 ^l	1,15±0,10 ^{hi}

Keterangan : Nilai rerata ± galat baku. Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada α = 5%. MST = Minggu Setelah Tanam.

Persentase pertumbuhan tunas pada media MS jauh lebih baik dibandingkan

media DKW (Gambar 1 dan 2). Hal ini diduga terjadi karena media dasar MS

mengandung Co^{++} , I^- dan piridoksin HCl yang tidak dimiliki oleh media DKW. Selain itu, media MS juga mengandung Nitrogen total 60 mM, lebih banyak dibandingkan media dasar DKW sebesar 52,1 mM (Bell, *et al.*, 2009). Nitrogen sangat dibutuhkan oleh tumbuhan dalam jumlah yang cukup banyak dikarenakan dapat meningkatkan produktivitas tanaman, salah satunya dengan meningkatnya jumlah tunas (Krapp, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Mahadi *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa media MS yang mengandung BAP 1-3 mg L^{-1} dan IBA 0,5-2,0 mg L^{-1} menghasilkan 100% tunas ubi jalar ungu pada umur 12 HST dari

semua perlakuan yang mengandung BAP 0-3 mg L^{-1} . Hal ini juga membuktikan bahwa media MS yang mengandung kombinasi BAP dengan IBA berpengaruh baik untuk pertumbuhan tunas pada beberapa jenis tanaman termasuk kupa.

Media MS lebih baik dibandingkan dengan media DKW untuk jumlah tunas, dengan media terbaiknya adalah MS + BAP 1 mg L^{-1} + IBA 0,1 mg L^{-1} (Tabel 1). Namun, MS + 1-2 mg L^{-1} BAP tanpa IBA juga memberikan hasil baik. Media MS mengandung nitrogen total lebih tinggi sehingga lebih produktif dalam memperbanyak tunas (Krapp, 2015).

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi BAP dan IBA terhadap bobot basah dan bobot kering tunas dari eksplan buku tunggal tanaman kupa (*Syzygium polycephalum*) umur 14 MST

BAP (mg L^{-1})	IBA (mg L^{-1})	Bobot Basah (g)	Bobot Kering (g)
0	0	0,058±0,005 ^h	0,014±0,002 ^f
0	0,1	0,100±0,014 ^h	0,013±0,002 ^f
0	0,5	0,212±0,040 ^{defg}	0,015±0,003 ^f
0,5	0	0,186±0,030 ^{fg}	0,018±0,002 ^f
0,5	0,1	0,299±0,042 ^{abc}	0,028±0,005 ^{bcd}
0,5	0,5	0,277±0,032 ^{bcd}	0,032±0,005 ^{ab}
1	0	0,262±0,042 ^{bcd}	0,040±0,015 ^{bcd}
1	0,1	0,331±0,038 ^{ab}	0,030±0,004 ^{ab}
1	0,5	0,365±0,041 ^a	0,036±0,004 ^a
2	0	0,304±0,040 ^{abc}	0,029±0,005 ^{abc}
2	0,1	0,288±0,036 ^{bc}	0,022±0,003 ^{cde}
2	0,5	0,258±0,035 ^{bcdef}	0,027±0,007 ^{bcd}
4	0	0,240±0,024 ^{cdef}	0,019±0,002 ^{ef}
4	0,1	0,184±0,024 ^g	0,015±0,002 ^f
4	0,5	0,202±0,026 ^{efg}	0,020±0,003 ^{def}

Keterangan: Nilai rerata ± galat baku. Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada $\alpha = 5\%$. MST = Minggu Setelah Tanam.

Pengamatan jumlah daun dan tinggi tunas menunjukkan bahwa media DKW secara umum lebih baik dibandingkan MS (Tabel 1). Jumlah daun terbanyak terdapat pada media DKW + BAP 1 mg L^{-1} + IBA 0,5 mg L^{-1} . Pengamatan tinggi tunas menunjukkan bahwa DKW + BAP 0,5-1 mg L^{-1} + IBA 0,1-0,5 mg L^{-1} merupakan media

terbaik. Hal ini karena media DKW memiliki kandungan Mn^{++} yang lebih tinggi yaitu 198 mM dibandingkan media MS hanya mengandung 100 mM. Mangan (Mn^{++}) dapat melancarkan proses asimilasi, meningkatnya kandungan auksin yang mengakibatkan pemanjangan tanaman baik di bagian pucuk maupun akar pada

Phaseolus radiatus (Istiqomah, 2012) dan *Phalaeonopsis* sp. (Purnami, et al., 2014). Oleh karena itu media DKW lebih unggul untuk jumlah daun dan tinggi tunas kupa. Penggunaan BAP lebih efektif dikombinasikan dengan IBA, sehingga dapat merangsang pembelahan sel dan pertumbuhan tunas. Penelitian Zakavi et

al., (2016) mendukung hal ini. Dengan menggunakan eksplan buku tunggal dari *Pyrus boissieriana* pada media MS dengan kombinasi BAP 1-1,75 mg L⁻¹ dan IBA 0,05-1 mg L⁻¹ dihasilkan pertumbuhan tunas tertinggi, yaitu 27 tunas per eksplan, pada kombinasi BAP 1,5 mg L⁻¹ dengan IBA 0,05 mgL⁻¹.

Tabel 3. Pengaruh jenis media dasar dengan konsentrasi BAP dan IBA terhadap pertambahan jumlah tunas dari eksplan tunas pucuk tanaman kupa (*S. polycephalum*) umur 14 MST

Media Dasar	BAP (mg L-1)	IBA (mg L-1)	Pertambahan Jumlah Tunas
DKW	0	0	3,00±1,30 ^h
	0	0,1	3,40±1,12 ^{gh}
	0	0,5	3,00±0,84 ^h
	0,5	0	5,20±0,20 ^{bcdef}
	0,5	0,1	5,40±0,24 ^{bcdef}
	0,5	0,5	5,40±0,24 ^{bcdef}
	1	0	6,00±0,55 ^{bcd}
	1	0,1	8,00±0,45 ^a
	1	0,5	6,80±0,37 ^{ab}
	2	0	6,60±0,24 ^{abc}
	2	0,1	5,80±0,49 ^{bcd}
	2	0,5	6,40±0,68 ^{abcd}
	4	0	6,60±0,51 ^{abc}
	4	0,1	4,60±0,40 ^{defgh}
4	0,5	5,40±0,68 ^{bcdef}	
MS	0	0	3,40±0,40 ^{gh}
	0	0,1	5,40±0,24 ^{bcdef}
	0	0,5	3,80±0,37 ^{fgh}
	0,5	0	5,20±0,37 ^{bcdef}
	0,5	0,1	5,60±0,24 ^{bcde}
	0,5	0,5	5,20±0,20 ^{bcdef}
	1	0	5,40±0,37 ^{bcdef}
	1	0,1	5,60±0,24 ^{bcde}
	1	0,5	5,40±0,51 ^{bcdef}
	2	0	5,80±0,37 ^{bcd}
	2	0,1	4,00±0,45 ^{efgh}
	2	0,5	5,40±0,24 ^{bcdef}
	4	0	3,80±0,20 ^{fgh}
	4	0,1	5,00±0,71 ^{bcdefg}
4	0,5	4,80±0,20 ^{cdefg}	

Keterangan: Nilai rerata ± galat baku. Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada α = 5%. MST = Minggu Setelah Tanam.

Analisis statistik menunjukkan bahwa kombinasi ZPT saja yang berpengaruh pada bobot basah dan bobot kering tunas dari eksplan buku tunggal (Tabel 2). BAP 1 mg L⁻¹ + IBA 0,1-0,5 mg L⁻¹ merupakan konsentrasi terbaik untuk bobot basah dan bobot kering kupa. Khajeh *et al.* (2021) menyatakan bahwa dengan menggunakan eksplan buku tunggal *Rosa damascene* pada media MS ditambah dengan BAP 0,5-1,5 mg L⁻¹ menunjukkan bahwa BAP 1-1,5 mg L⁻¹ berpengaruh cukup baik untuk bobot basah dan bobot kering walau tanpa IBA.

Tabel 3 menunjukkan bahwa media terbaik untuk penambahan jumlah tunas dari eksplan tunas pucuk, yaitu media DKW ditambah dengan BAP 1 mg L⁻¹ dan IBA 0,1 mg L⁻¹, namun BAP 1-4 mg L⁻¹ dengan kombinasi IBA 0-0,5 mg L⁻¹ juga baik untuk

pertumbuhan tunas baru. Guney *et al.*, (2020) menyatakan bahwa kombinasi BAP dengan IBA pada media DKW juga memacu penambahan jumlah tunas pada *Crataegus spp.* Penelitian tersebut menggunakan BAP 2 mg L⁻¹ dan IBA 0,2 mg L⁻¹ menghasilkan pertumbuhan tunas terbaik.

Tabel 4 menunjukkan bahwa BAP 0,5-2 mg L⁻¹, dengan atau tanpa IBA, merupakan konsentrasi terbaik untuk jumlah daun, tinggi tunas, bobot basah dan bobot kering tunas. Jenis media, MS dan DKW, tidak berpengaruh. Kombinasi konsentrasi BAP dengan atau tanpa IBA juga berpengaruh terhadap pertumbuhan jumlah daun, tinggi tunas, dan bobot basah dan bobot kering pada kina (Santoso, 2012), gaharu (Arhvitarsari *et al.*, 2019) dan rujak polo (Samanhudi *et al.*, 2021).

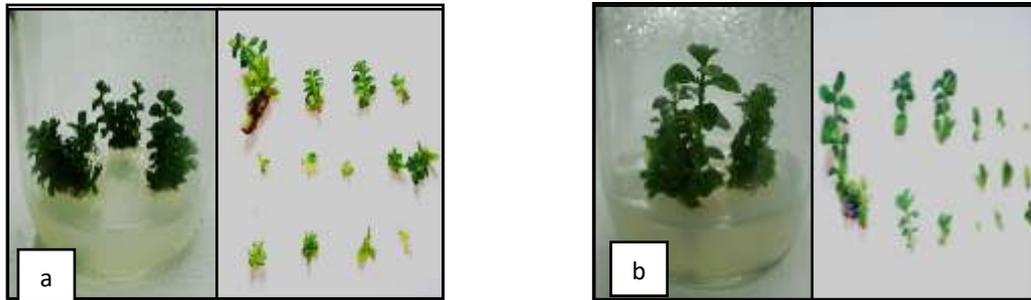
Tabel 4. Pengaruh konsentrasi BAP dan IBA terhadap jumlah daun, tinggi tanaman, bobot basah, dan bobot kering tunas dari eksplan tunas pucuk tanaman kupa (*S. polycephalum*) umur 14 MST

BAP (mg L ⁻¹)	IBA (mg L ⁻¹)	Jumlah Daun (helai)	Tinggi Tunas (cm)	Bobot Basah (g)	Bobot Kering (g)
0	0	8,20±2,52 ^d	1,050±0,210 ^g	0,043±0,011 ^e	0,013±0,004 ^{de}
0	0,1	14,30±2,21 ^d	1,520±0,220 ^{def}	0,104±0,011 ^{de}	0,011±0,002 ^e
0	0,5	17,80±3,14 ^{cd}	1,150±0,190 ^{fg}	0,310±0,130 ^{bc}	0,016±0,005 ^{cde}
0,5	0	14,70±1,51 ^d	1,740±0,200 ^{cde}	0,239±0,061 ^{cd}	0,021±0,006 ^{cde}
0,5	0,1	26,30±5,06 ^{bc}	2,130±0,140 ^{abc}	0,316±0,059 ^{bc}	0,031±0,005 ^{abc}
0,5	0,5	38,80±7,40 ^a	1,800±0,150 ^{cde}	0,261±0,059 ^{bcd}	0,024±0,007 ^{bcde}
1	0	34,20±7,99 ^{ab}	2,230±0,220 ^{abc}	0,507±0,142 ^a	0,040±0,007 ^a
1	0,1	35,40±5,98 ^{ab}	2,320±0,260 ^{ab}	0,389±0,112 ^{bc}	0,031±0,010 ^{abc}
1	0,5	40,80±7,22 ^a	1,990±0,250 ^{bcd}	0,318±0,102 ^{bc}	0,030±0,009 ^{abc}
2	0	33,40±3,73 ^{ab}	2,220±0,270 ^{abc}	0,436±0,061 ^{ab}	0,038±0,007 ^{ab}
2	0,1	38,90±6,20 ^a	1,830±0,180 ^{cde}	0,417±0,102 ^{abc}	0,037±0,008 ^{ab}
2	0,5	35,60±1,86 ^{ab}	2,510±0,250 ^a	0,320±0,100 ^{bc}	0,036±0,013 ^{ab}
4	0	16,50±2,63 ^d	1,390±0,180 ^{efg}	0,296±0,032 ^{bc}	0,027±0,004 ^{abcd}
4	0,1	18,00±5,27 ^{cd}	1,620±0,280 ^{de}	0,268±0,063 ^{bcd}	0,020±0,004 ^{cde}
4	0,5	12,50±2,12 ^d	1,940±0,230 ^{bcd}	0,254±0,032 ^{bcd}	0,031±0,006 ^{abc}

Keterangan: Nilai rerata ± galat baku. Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada α = 5%. MST = Minggu Setelah Tanam.

Penampilan kultur dan tunas-tunas pada media terbaik dari eksplan buku

tunggal dan tunas pucuk pada umur 14 MST disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kultur dan tunas kupa (*S. polycephalum*) asal eksplan buku tunggal dalam media MS + 1 BAP dan IBA 0,1 mg L⁻¹ (a), dan asal tunas pucuk dalam media DKW + 1 BAP dan IBA 0,1 mg L⁻¹ (b), media terbaik untuk multiplikasi tunas usia 14 MST

Perakaran

Pada fase perakaran, tunas yang dipindahkan ke media agar tidak mampu menghasilkan akar. Sementara itu, tunas yang dipindahkan media pasir dan vermikulit mampu 100% menghasilkan akar (Tabel 5). Substrat campuran pasir + vermikulit lebih baik dibandingkan substrat agar untuk pengakaran kupa, dengan terbentuknya akar 100%. Analisis statistik menunjukkan bahwa IBA tidak

berpengaruh pada pengakaran ini. Hal ini diduga karena kadar auksin di dalam jaringan tunas tersebut telah cukup untuk menginduksi perakaran, apalagi tunas telah mendapatkan IBA di tahap multiplikasi sebelumnya. Substrat pasir + vermikulit yang diberi larutan nutrisi MS menghasilkan jumlah akar terbanyak. Substrat pasir + vermikulit yang diberi larutan DKW dan MS sama baiknya untuk panjang akar.

Tabel 5. Pengaruh jenis substrat dan larutan nutrisi terhadap jumlah akar, panjang akar, penambahan jumlah daun tunas kupa (*S. polycephalum*) pada 12 MST di tahap pengakaran

Perlakuan Media		Jumlah Akar	Panjang Akar (cm)	Pertambahan Jumlah Daun (helai)	Terbentuk Akar (%)
Substrat	Larutan nutrisi				
Agar	DKW	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^b	9,08±1,04 ^a	0
Agar	MS	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^b	5,27±1,08 ^b	0
Pasir+Vermikulit	DKW	4,75±0,46 ^b	2,27±0,30 ^a	4,13±0,55 ^b	100
Pasir+Vermikulit	MS	6,75±1,05 ^a	2,16±0,44 ^a	5,00±0,56 ^b	100

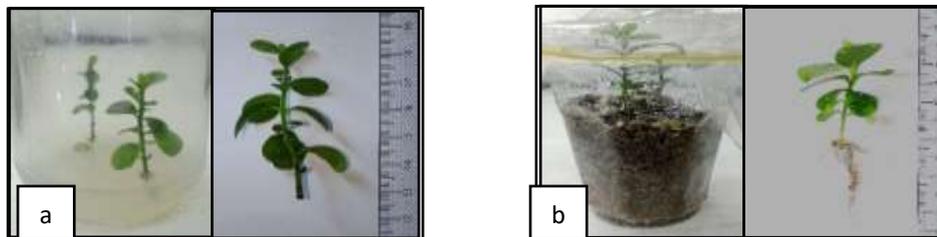
Keterangan: Nilai rerata ± galat baku. Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada α = 5%. MST = Minggu Setelah Tanam.

Gambar 4 yang menyajikan gambar tunas kupa umur 12 MST pada substrat pengakaran agar dan pada substrat pasir +

vermikulit. Allemand *et al.* (1992) menyatakan bahwa substrat pasir + vermikulit + larutan DKW dengan ¼ makro

elemen (1:2:1) dapat meningkatkan perakaran pada tunas kenari hibrida. Dari 6 klon kenari hibrida, lima klon di antaranya mencapai perakaran 80-100%, dengan jumlah akar dan panjang akar per tunas meningkat. Hal ini karena vermikulit dapat meningkatkan volume substrat serta aerasi dari media pengakaran dibandingkan media agar. Substrat agar yang mengandung larutan nutrisi DKW terbaik untuk penambahan jumlah daun di fase ini. Jumlah daun akan berpengaruh dalam pembentukan akar di fase aklimatisasi. Pertambahan jumlah daun lebih baik

karena pada larutan DKW terdapat unsur mikro Ni^{2+} . Unsur Ni^{2+} digunakan untuk membebaskan nitrogen. Salah satu fungsi nitrogen adalah meningkatkan laju fotosintesis dan selama fotosintesis dibutuhkan energi. Pada media agar terdapat sukrosa, dan sukrosa dapat digunakan sebagai sumber energi sehingga penambahan jumlah daun lebih baik pada media agar dibandingkan tunas yang ditanam pada media pasir + vermikulit yang tidak mengandung sukrosa (Bell *et al.*, 2009; Sonbai, 2013).



Gambar 4. Tunas kupa (*S. polycephalum*) pada substrat agar yang tidak menghasilkan akar (a) dan substrat pasir + vermikulit yang berhasil menumbuhkan akar (b).

Histologis Pangkal Tunas

Sayatan histologis batang pada planlet berakar menunjukkan adanya pati yang tidak intensif, yang tersebar ke seluruh jaringan batang (Gambar 5a), sedangkan pada batang tunas yang tidak berakar, pati banyak berkumpul pada bagian kambium, empulur dan jaringan pembuluh (Gambar 5b).

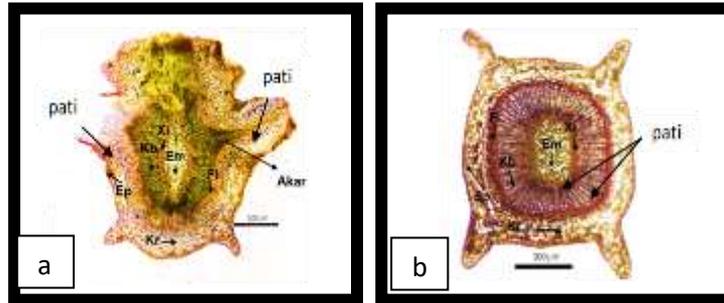
Adanya pati biasanya ditandai dengan warna biru, merah tua, coklat, atau keunguan yang tersebar pada bagian jaringan tanaman. Pati atau amilum yang bereaksi dengan pewarna iodium menghasilkan warna biru, dekstrin menghasilkan warna merah ungu, glikogen dan sebagian pati yang terhidrolisis jika bereaksi dengan iodium menghasilkan warna merah coklat atau hitam (Hanum,

2017). Pada Gambar 6, terindikasi bahwa bahwa glikogen, dekstrin, atau pati yang sudah terhidrolisis mendominasi bagian pangkal batang tunas kupa, sehingga berwarna merah tua, coklat keunguan.

Sayatan pada planlet tidak berakar (Gambar 5b) menunjukkan adanya pati dalam jumlah banyak, tersebar di seluruh jaringan, terutama berkumpul pada jaringan pembuluh. Hal ini mungkin disebabkan karena dengan tidak tumbuhnya akar, tanaman menyimpan cadangan patinya di pangkal tunas. Media agar tidak cukup baik untuk menginduksi tumbuhnya akar akibat dihambat oleh etilen yang dipicu akibat kinerja hormon auksin di dalam sel-sel tunas kupa (Akbar, *et al.*, 2017). Pati yang telah terakumulasi di daerah pangkal tunas akan digunakan

sebagai sumber karbon dan energi yang mendorong tanaman untuk menghasilkan akar. Pada penelitian ini, ketika tunas yang

tidak berakar di substrat agar dipindahkan ke substrat beraerasi, tunas tersebut kemudian mampu menumbuhkan akar.



Keterangan: Ep = Epidermis, Kb = Kambium, Em = Empulur, Xi = Xilem, Fl = Floem, Kr = Korteks. Perbesaran 100x. Skala 100 µm.

Gambar 5. Sayatan pangkal batang tunas kupa (*S. polycephalum*) menggunakan pewarna kalium iodide. a) Sayatan pangkal batang tunas berakar, b) sayatan pangkal batang tunas tidak berakar

Aklimatisasi Planlet

Tabel 6 menunjukkan persentase daya hidup planlet kupa pada proses aklimatisasi umur 6 MST. Substrat agar dengan larutan nutrisi DKW memberikan persentase daya hidup terendah. Persentase daya hidup tertinggi terdapat pada tanaman yang berasal dari substrat pasir + vermikulit dengan larutan MS. Hal ini sejalan dengan pengamatan akar pada Tabel 5, yakni tanaman yang berasal dari substrat pasir + vermikulit dengan tambahan larutan nutrisi DKW atau MS memberikan persentase terbentuknya akar sebesar

100% sehingga ketahanan hidupnya lebih tinggi dibandingkan tanaman yang berasal dari substrat agar. Bahkan tunas yang belum berakar pada 12 MST di substrat agar dapat menghasilkan akar di saat aklimatisasi ini, yakni tunas-tunas yang masih mempertahankan pertumbuhan daunnya di fase pengakaran. Tanaman *Pyrus pyrifolia* (Tetsumura, et al., 2011), dan *Carica papaya* (Sekeli et al., 2013) juga berhasil tumbuh dengan baik dan dapat bertahan hidup pada substrat perakaran pasir dan vermikulit dibandingkan pada substrat agar.

Tabel 6. Daya hidup planlet kupa (*S. polycephalum*) pada tahap aklimatisasi umur 6 MST

Perlakuan Media		Daya Hidup (%)
Substrat	Media Dasar	
Agar	DKW	31,4
Agar	MS	52,7
Pasir+Vermikulit	DKW	62,6
Pasir+Vermikulit	MS	77,7

SIMPULAN

1. Mikropropagasi kupa (*S. polycephalum*) berhasil dilakukan dengan optimasi media.
2. Media yang optimal untuk multiplikasi tunas dari eksplan buku tunggal adalah media MS, sedangkan untuk eksplan tunas pucuk adalah pada DKW. Keduanya dengan penambahan BAP 1 mg L⁻¹ dan IBA 0,1 mg L⁻¹.
3. Untuk tahap pengakaran, substrat pasir+vermikulit dengan larutan MS merupakan media terbaik, dengan 100% tunas berakar, serta jumlah dan panjang akar tertinggi.
4. Tanaman yang berasal dari substrat pasir + vermikulit dengan larutan nutrisi MS menghasilkan planlet yang bertahan hidup paling tinggi pada tahap aklimatisasi, yaitu 77,7%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dewi Saputri teknisi Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman-IPB, kepada Halida Nurmalia teknisi Laboratorium Ekologi dan Sumber Daya Tumbuhan-IPB, Asep Awaludin teknisi Laboratorium Fisiologi dan Genetika Tumbuhan-IPB. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. Andri F. Martin dan Rudianto, M.Sc. dari Pusat Riset Rekayasa Genetika, BRIN untuk masukan pada analisis statistik dan kepada PT Astra Internasional Tbk. atas izin penggunaan material penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, A., Eny, F. Sapto I., & Toni, H. (2017). Induksi tunas, multiplikasi dan perakaran *Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke secara *in vitro*. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 11 (1), 155-168.
- Allemand, C.J., Capelli, P., & Cornu, D. (1992). Root development of *in vitro* hybrid walnut micro cuttings in a vermiculite-containing gelrite medium. *Scientia Horticulturae*, 51(1), 335-342.
- Arhvitasi, Muslimin, Waeniyanti, & Wardah. (2019). Organogenesis tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) pada berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh Benzyl Amino Purin (BAP) - Indole Butiric Acid (IBA) secara *in vitro*. *Jurnal Warta Rimba*, 7(3), 88-93.
- Asra, D.R., Ririn, A.S., & Mariana, S. (2020). *Hormon Tumbuhan*. Jakarta (ID): UKI Press.
- Barney, D.L., Lopez, O.A., & King E. (2007). Micropropagation of cascade huckleberry, mountain huckleberry, and oval-leaf bilberry using woody plant medium and murashie and skoog medium formulation. *Journal of Horticultural Science and Technology*, 17(3), 279–284.
- Bell, R.L, Srinivasan, C., & Lomberk, D. (2009). Effect of nutrient media on axillary shoot proliferation and preconditioning for adventitious shoot regeneration of pears *in vitro* cell. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 45(6), 708–714.
- Carra, A., Caterina, C., Ornella B., Francesco C., Salvatore, P., Antonio, M., Loredana, A., Francesca, L.B., Laurance, F., Gregore, K., & Gluseppe, G. (2019). Overcoming sexual sterility in conservation of endangered species: the prominent role of biotechnology in the multiplication of *Zelkova sicula* (Ulmaceae), a relict tree at the brink of extinction. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 137(1), 139–148.
- Dimitri, N., & Nacheva, L. (2018). Micropropagation of *Helichrysum*

- italicum* (ROTH) G. Don – a medicinal plant with ornamental value. *Journal of BioScience and Biotechnology*, 7(2), 97-101.
- Driver, J.A., & Kuniyuki, A.H. (1984). *In vitro* propagation of paradox walnut rootstock. *Horticultural Science*, 19(1), 507-509.
- Dwiyani, & Rindang. (2015). *Kultur Jaringan Tanaman*. Bali (ID): Pelawa Sari.
- Guney, M., Mozghan, Z., Songul, C., Hakan, K., Muhammet, A.G., Ebru, K., & Sezai, E. (2020). The efficiency of various plant growth regulators on micropropagation of hawthorn (*Crataegus spp.*). *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*. 73(1), 58-65.
- Hanum, G.R. (2017). *Biokimia Dasar*. Sidoarjo (ID): UMSIDA Press.
- Heriyanto, N.M., & Hendra, G. 2020. Keanekaragaman jenis pohon dan potensi serapan karbon taman kehati bumi patra, Indramayu, Jawa Barat. *Buletin Kebun Raya*, 23(3), 210–219. <https://doi.org/10.14203/bkr.v23i3.668>
- Hidayati, N., Reza, M., Juhaeti, T., & Mansur, M. (2011). Serapan karbondioksida (CO₂) jenis-jenis pohon di taman buah "Mekar Sari" Bogor, kaitannya dengan potensi mitigasi gas rumah kaca. *Jurnal Biologi Indonesia*, 7(1), 133-145.
- Irnawati, Zubaydah, S., & Arifah. (2017). Anthocyanin total and antioxidant activity of ruruhi (*Syzygium polycephalum* Merr.) fruit. *Journal of Medical and Pharmaceutical Innovation*, 6(2), 169-175.
- Istiqomah, N. (2012). Efektivitas pemberian air cucian beras coklat terhadap produktivitas tanaman kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L.) pada lahan rawa lebak. *ZIRAA'AH*, 33(1), 99-108.
- Jagięłto-Kubiec, K., Nowakowska, K., Ilczuk, A., & Łukaszewska, A.J. (2021). Optimizing micropropagation conditions for a recalcitrant ninebark (*Physocarpus opulifolius* L. maxim.) cultivar. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 57(1), 281–295.
- Kassaye, E., & Berhanu, D.B., (2015). *In vitro* optimization of the protocol for micropropagation of plum (*Prunus salicina* L. Var. Methley) from nodal explants. *Biotechnology Journal International*, 8(4), 137-148.
- Khafri, A.Z., Mahmood, S., Reza, Z., Baratali, F., Nafiseh, M., & Masoud, N. (2020). *In vitro* propagation of three Iranian apricot cultivars. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 57(1), 102–117.
- Khajeh, H., Farzaneh, F., & Ayoub, M. (2021). Effects of culture medium and concentration of different growth regulators on organogenesis damask rose (*Rosa damascena* Mill). *Journal of Plant Bioinformatics and Biotechnology*, 1(1), 14-27.
- Krapp, A. (2015). Plant nitrogen assimilation and its regulation: a complex puzzle with missing pieces. *Current Opinion in Plant Biology*, 25(1), 115-122. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.05.010>
- Lestari, R., Saniyatun, M., Popi, A., Sri, H., Hary, W., Elly, K., Sahromi, Aninda, R.U.W., Siti, M., & Prita, A.P. (2017). *Koleksi Tumbuhan Buah Kebun Raya Katingan*. Jakarta (ID): LIPI Press.
- Mahadi, I., Sri, W., & Berlian K. (2015). Mikropropagasi ubi jalar ungu (*Ipomoea blackie*) dengan menggunakan Benzyl Amino Purin (BAP) dan Indole 3 Butyric Acid (IBA) secara *in vitro* sebagai sumber belajar konsep bioteknologi bagi siswa SMA. *Biogenesis*. 11(2), 105-110.
- Mahdi, I., Wan, S., & Suci, A. (2015). Kultur Jaringan Jeruk Kasturi (*Citrus*

- microcarpa*) dengan Menggunakan Hormon Kinetin dan Naftalena Acetil Acid (NAA). *Jurnal Dinamika Pertanian*, 30(1), 37-44.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(1), 473-497, 1962.
- Nas, N.M., Leyla, G., Nevzat, S., Murat, A., Merve, D., & Zahide, S. (2012). Micropropagation of mature *Crataegus aronia* L., a medicinal and ornamental plant with rootstock potential for pome fruit. *Plant Growth Regul*, 67(1), 57-63.
- Purnami, N.L.G.W., Hestin, Y., & Astiningsih A.M. (2014). Pengaruh jenis dan frekuensi penyemprotan leri terhadap pertumbuhan bibit anggrek *Phalaeonopsis* sp. Pasca aklimatisasi. *Jurnal Agroteknologi Tropika*, 3(1), 22-31.
- Ragasa, C.Y, Torres, O.B, Shen, C.C, Lachica, M.K.E.G., Sulit, A.B., Chua, D.B.D.L., Ancheta, A.D.M., Ismail, C.J.B., Bernaldez, F.T.E, & Raga, D.D. (2014). Triterpenes from the leaves of *Syzygium polycephalum*, *S. cumini*, and *S. samarangense*. *Chemistry of Natural Compounds*, 50(5), 942-944.
- Roselinda, E., Farah, D., & Hari, P. (2022). Pelatihan pembibitan secara generatif dan vegetatif bagi petani di Kelurahan Setapak Besar, Kota Singkawang. *Jurnal Agrokreatif*, 8(2), 212-219. <https://doi.org/10.29244/agrokreatif.8.2.212-219>
- Samanhudi, Bambang, P., Ahmad, Y., & Nurkholis, M. (2021). Pertumbuhan *in vitro* *Tribulus terrestris* dengan perlakuan Indole Butyric Acid (IBA) dan Benzyl Amino Purine (BAP). *AGRIUM*. 24(1): 40-47.
- Samanhudi, Bambang, P., Ahmad, Y., & Nurkholis, M. (2021). Pertumbuhan *in vitro* *Tribulus terrestris* dengan perlakuan Indole Butyric Acid (IBA) dan Benzyl Amino Purine (BAP). *Jurnal Ilmu Pertanian*, 24(1), 40-47.
- Santoso, J. (2012). Pengaruh konsentrasi Benzyl Amino Purin (BAP) dan Indole Butyric Acid (IBA) terhadap pertumbuhan tunas dan perakaran kina (*Cinchona ledgeriana* Moens.) dalam kultur *in vitro*. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*, 15(1), 40-49.
- Sekeli, R., Janna, O.A., Parameswari, N., Puziah M., & Umi, K.A.B. (2013). Better rooting procedure to enhance rate of field grown Malaysian eksotika papaya transformed with 1-Aminoctylopropane-1-Carboxylic Acid Oxidase Ganes. *Hindawi Publishing Corporation*, 13, 1-10.
- Solikin, S.B. (2010). *Potensi dan Konservasi Buah-Buahan Lokal Jawa Timur*. Pasuruan (ID): Kebun Raya Purwodadi.
- Sonbai, J.H.H. (2013). Pertumbuhan dan hasil jagung pada berbagai pemberian pupuk nitrogen di lahan kering regosol. *Pertanian Terapan*, 20(2), 154-164. <http://dx.doi.org/10.35726/jp.v20i2.20>
- Tetsumura, T., Ishimura A., Aikou, Y., Eguchi, N., & Kai, Y. (2011). Vermiculite-containing and gellan gum-solidified medium improves rooting of micro cutting of Japanese pear cultivars. *Acta Horticulturae*, 923, 59-64.
- Zakavi, M., Hossein, A., & Neda, I. (2016). Optimizing micropropagation of drought resistant *Pyrus boissieriana* Buhse. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 22(1), 583-593. <https://doi.org/10.1007/s12298-016-0387-6>