

Hasil Akar dan Reserpina Pule Pandak (*Rauvolfia serpentina* Benth.) pada Media Bawah Tegakan Berpotensi Alelopati dengan Asupan Hara

Root yield and reserpine content of *Rauvolfia serpentina* Benth. on media under the plant with potential allelopathic effect by nutrient addition

SULANDJARI

Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret (UNS), Surakarta 57126.

Diterima: 27 November 2007. Disetujui: 27 April 2008.

ABSTRACT

The root of *Rauvolfia serpentina* Benth (pule pandak) contains more than 50 kinds of alkaloid which is useful to treat many kinds of diseases and reserpine is ones to treat of hypertension. *Eucalyptus deglupta* and *Acacia mangium* have become release an allelochemy to ecosystem that are can reduce the growth of the plant association. The purpose of this research is to know about the influence of nutrient and media under the plant with potential allelopathic effect to root yield and reserpine content. The research was arranged in Complete Random Block Design. Nutrient was nested on media. Media are: under *Tectona grandis*, *A. mangium*, and *E. deglupta*. Nutrient is 30 t ha⁻¹ organic fertilizers, 200 ha⁻¹ inorganic (NPK) fertilizers and control. Polybag with 30 cmx30 cm plant densities and 20% of shading. The result are that beside under the *T. grandis*, pule pandak was capable to growth under the *A. mangium* and *E. deglupta*. Thirty ton per hectare organic fertilizers was increased of growth and yield more than 200 ha⁻¹ inorganic (NPK) fertilizers. Allelochemy from *A. mangium* and *E. deglupta* was decreased dry root yield but was not effect to reserpine content.

© 2008 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Keywords: nutrient, *Rauvolfia serpentina*, reserpine, root yield.

PENDAHULUAN

Pule pandak (*Rauvolfia serpentina* Benth.) tanaman obat yang telah dinyatakan langka karena pengambilannya secara langsung di habitatnya tanpa memperhatikan daya regenerasinya, sehingga menurut CITES masuk pada appendix II atau menurut IUCN termasuk katagori genting (*endangered species*) (Mulliken and Crofton, 2008). Tanaman ini termasuk familia Apocinaceae, tumbuh di India, Myanmar, Thailand, dan Indonesia (terutama Jawa). Di habitat alamnya, pule pandak tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 1.000 m dpl. Dengan tipe iklim C menurut Schmid-Ferguson. Pule pandak tumbuh di tanah regosol, mediteran, dan litosol serta menyukai naungan di bawah 25% (Sarin, 1982; Tyler *et al.*, 1988). Tanaman ini hidup secara endemik di bawah naungan jati. Akar pule pandak mengandung lebih dari 50 macam alkaloid, beberapa di antaranya sudah berhasil diisolasi seperti reserpina, resinamina, ajmalina, dan serpentina. Bahan aktif ini berkhasiat sebagai pencegah naiknya suhu badan, obat penenang, obat tekanan darah tinggi, dan menormalkan denyut jantung. Penemuan terakhir adalah diisolasinya tiga macam alkaloid baru yang tergolong dalam monoterpenoid indol alkaloid (Hendrian, 1998; Sheludko *et al.*, 2002).

Dari segi ekonomi, pule pandak mempunyai nilai penting. Data menunjukkan bahwa penggunaan simplisia pule pandak dalam negeri tahun 2000 sebesar 6.898 kg

dengan kecenderungan pertambahan sebesar 25,89% per tahun (Yahya dkk., 2002). Nilai pule pandak sebagai tanaman obat terletak pada kandungan alkaloidnya. Keberadaan alkaloid dalam tumbuhan sangat tergantung pada lingkungan terutama faktor-faktor yang mempengaruhi proses enzimatik antara lain jenis tanah, unsur hara, curah hujan, temperatur, dan cahaya. Unsur hara sangat besar pengaruhnya, karena pada proses biosintesis metabolit sekunder, unsur hara bertindak sebagai prekursor (Sahid dan Nurhayati, 1992).

Acacia mangium dan *Eucalyptus deglupta*, di samping tanaman jati (*Tectona grandis*), adalah jenis-jenis pohon yang banyak dikembangkan di Hutan Tanaman Industri (HTI). Dari populasi HTI ini dimungkinkan adanya tanaman sela yang dapat memanfaatkan efek naungan dan lahan kosong di bawah tegakan. Salah satu jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman sela adalah pule pandak. Dalam hal ini, perlu diperhitungkan faktor-faktor asosiasi dalam populasi dan hubungannya dengan alelokemi yang mungkin dihasilkan oleh tanaman pokok.

Dari beberapa penelitian yang pernah dilakukan, *E. deglupta* diketahui melepaskan senyawa alelokemi ke lingkungan dan mempengaruhi tumbuhan lain yang berasosiasi. Senyawa yang menghambat pertumbuhan tersebut berupa fenol yang mudah larut dalam air dan terpen yang mudah menguap. Senyawa-senyawa ini telah berhasil diisolasi dari daun, kulit kayu dan akar tumbuhan ini (Silander *et al.*, 1983; May dan Ash, 1990). Senyawa fenol dapat masuk ke dalam tanah melalui pelindian, daun, eksudat akar atau karena dekomposisi sisa-sisa tumbuhan (Rice, 1984; Darrell, 1996). Fenol merupakan salah satu

♥ Alamat Korespondensi:
Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126
Telp.: +62-341-426046, Fax. +62-341-426046
Email : ndjari@yahoo.com

komponen senyawa alelopatik yang dapat ditemukan dalam jumlah cukup besar pada hampir semua tumbuhan, terutama tanaman-tanaman yang menghasilkan minyak atsiri dan metabolit sekunder lain, termasuk akasia dan eukaliptus (Singh *et al.*, 1991). Senyawa fenol dapat masuk ke dalam tanah melalui pelindian daun, eksudasi akar, dan dekomposisi sisa-sisa tumbuhan. Senyawa alelopati yang berada dalam tanah tidak mudah tercuci oleh air, namun akan mengalami penurunan konsentrasi dan pengurangan daya racun, karena menyatu dengan asam humat (Dalton *et al.*, 1983).

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penambahan unsur hara pada media tanah berpotensi alelopati terhadap hasil akar dan kadar reserpina pule pandak. Dengan kata lain apakah pule pandak dengan penambahan hara dapat berasosiasi bersama populasi tegakan akasia dan eukaliptus dan menghasilkan bobot akar dan kadar reserpina yang tinggi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Hutan Penelitian Wanagama I, desa Playen, kecamatan Banaran, kabupaten Gunungkidul. Rancangan percobaan, RAKL tersarang, dengan perlakuan: 1. Media tanah bawah tegakan jati, bawah tegakan eukaliptus, dan bawah tegakan akasia. Perlakuan pupuk tersarang dalam media: pupuk organik (PO) 30 t ha⁻¹, Pupuk NPK (15: 15: 15) 200 kg ha⁻¹, dan tanpa pupuk (kontrol). Setiap perlakuan dilakukan dengan sembilan ulangan dengan perlakuan destruktif setiap umur tanaman 3-9 bulan. Bibit pule pandak berasal dari setek akar berumur tiga bulan. Penelitian menggunakan polibag dengan jarak penempatan 30x30 cm² dan naungan paranet ± 20%. Media tanah diambil dari bawah naungan jati, akasia, dan eukaliptus berumur ± 10 tahun pada kedalaman lapis olah sampai dengan 40 cm. Masing-masing media tanah diayak untuk membuang batu dan kerikil (Dalton *et al.*, 1983). Perlakuan pemupukan bahan organik diberikan pada saat tanam sedangkan NPK diberikan dua minggu sesudah tanam.

Contoh tanah tempat tumbuh dianalisis, meliputi tekstur dan struktur fisik tanah, serta N total, P tersedia, K tersedia, bahan organik, dan KPK. Pengamatan terhadap komponen pertumbuhan pule pandak terdiri atas: tinggi tanaman, jumlah daun, luas daun, dan rasio akar tajuk. Pengamatan komponen hasil terdiri atas jumlah akar, panjang akar, dan diameter akar, serta bobot kering akar, kadar reserpina, dan bobot reserpina dalam akar. Dilakukan analisis jaringan terhadap NPK daun saat panen. Ekstraksi akar dilakukan dengan petroleum eter dan pemisahannya menggunakan etanol, etil asetat, asam tartrat, dan kloroform. Setiap perlakuan diukur kadar reserpinanya melalui HPLC (Cordel, 1981).

Analisis data dilakukan dengan analisis varian (Anova) dengan p ≤ 0,001 dan p ≤ 0,005. Beda nyata antar perlakuan diuji dengan uji Duncan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis kimia tanah ketiga media (Tabel 1.) menunjukkan bahwa tingkat kesuburan media bawah jati, akasia, dan eukaliptus termasuk kurang subur. Berdasarkan pernyataan Hardjowigeno (1987), maka media bawah jati dalam penelitian ini memiliki KPK yang tergolong

tinggi, media bawah akasia memiliki KPK rendah dan media bawah eukaliptus memiliki KPK sedang. Hasil analisis fisik tanah (Tabel 2.) menunjukkan bahwa ketiga media tanah termasuk tanah lempungan.

Tabel 1. Analisis kimia tanah awal media tanah.

Komponen unsur	Media/Bawah		
	Jati	Akasia	Eukaliptus
N total (%)	0,27	0,32	0,41
P tersedia (Ppm)	8,17	6,29	7,96
K tertukar/100g	0,28	0,29	0,35
C organik (%)	6,10	4,18	7,52
KPK Me/100g	30,15	18,6	20,15

Tabel 2. Analisis fisik tanah media bawah tegakan jati, akasia, dan eukaliptus.

Komponen unsur	Media/Bawah		
	Jati	Akasia	Eukaliptus
Bv g/cm ³	1,08	1,37	1,47
Bj g/cm ³	2,15	2,19	2,16
Porositas (%)	49,77	37,40	31,94
Tekstur:			
Debu (%)	38,01	37,17	30,43
Lempung (%)	50,65	52,13	56,86
Pasir (%)	11,34	10,70	12,71

Tabel 3. Sidik ragam peubah pertumbuhan dan hasil pule pandak.

Sumber	KT										
	db	tt	jmd	lsd	at	pa	ja	da	bka	krs	bra
M	2	**	*	**	**	tn	**	*	*	tn	tn
P(M)	6	**	**	**	**	*	**	**	**	*	*

Keterangan: **/= sangat nyata/nyata pada p ≤ 0,001/p ≤ 0,005; tt= tinggi tanaman; jmd= jumlah daun; lsd=luas daun; at= akar tajuk; pa= panjang akar; ja= jumlah akar; da= diameter akar; bka= bobot kering akar; krs= kadar reserpina; bra= bobot reserpina dalam akar.

Tabel 4. Pengaruh media dan pupuk terhadap pertumbuhan pule pandak bawah tegakan jati, akasia, an eukaliptus.

Peubah	Pupuk	Media/Bawah		
		Jati	Akasia	Eukaliptus
Tinggi tanaman	0	47,53 b	36,50 l	39,83 r
	PO	59,17 a	52,33 k	47,00 q
	NPK	54,33 a	48,17 kl	52,43 p
	Rerata	53,68 A	45,67 B	46,42 B
Jumlah daun	0	12,33 b	17,33 l	18,00 r
	PO	20,33a	23,33 k	30,33 p
	NPK	17,00 b	20,00 l	22,33 q
	Rerata	16,44 C	20,22 B	23,56 A
Luas daun (cm ²)	0	186,9 b	214,00 l	231,30 q
	PO	245,4 a	240,50 k	270,90 p
	NPK	219,9 a	235,40 k	253,20 q
	Rerata	217,40 A	174,8 B	180,6 B
Rasio akar tajuk	0	2,61 c	2,31 l	2,50 q
	PO	4,34 a	3,23 k	3,19 p
	NPK	3,52 b	2,78 l	2,69 q
	Rerata	3,49 A	2,77 B	2,79 B

Keterangan: Huruf sama pada kolom, masing-masing peubah tidak nyata berbeda pada DMRT 5%.

Hasil analisis ragam peubah pertumbuhan dan hasil akar pule pandak menunjukkan bahwa macam media berpengaruh sangat nyata/nyata terhadap semua peubah pertumbuhan dan hasil, kecuali panjang akar dan kadar reserpina. Asupan hara dari pupuk organik ataupun anorganik (NPK) berpengaruh nyata terhadap semua peubah pertumbuhan dan hasil (Tabel 3.). Analisis statistik perlakuan terhadap peubah pertumbuhan pule pandak (Tabel 4.) menunjukkan bahwa pule pandak pada media bawah jati mengalami pertumbuhan yang lebih baik daripada media bawah akasia ataupun eukaliptus yang ditunjukkan pada tinggi tanaman, luas daun, dan ratio akar tajuk. May dan Ash (1990) melaporkan bahwa senyawa fenolik dapat menurunkan kandungan klorofil, sehingga menghambat fotosintesis yang dapat dilihat pada meningkatnya ratio akar tajuk, karena hasil fotosintesis digunakan untuk pertumbuhan akar. Selanjutnya ekstrak daun eukaliptus dapat menekan bobot kering tajuk.

Pemberian pupuk organik pada masing-masing media meningkatkan tinggi tanaman, menambah jumlah daun, daun menjadi lebih luas dan meningkatkan ratio akar tajuk. Hal ini dimungkinkan karena KPK media bawah jati lebih tinggi daripada media bawah akasia dan eukaliptus sehingga unsur hara lebih mudah tersedia. Di samping itu senyawa alelopati pada konsentrasi tertentu dapat menurunkan kemampuan pertumbuhan tanaman karena transport asam amino dan pembentukan protein terhambat. Pemupukan NPK kurang meningkatkan pertumbuhan sesuai pernyataan (Lisanevork dan Michelsen, 1993) bahwa alelopati dapat menghambat penyerapan hara mineral seperti terlihat pada kandungan unsur NPK di daun pada media bawah akasia dan eukaliptus lebih rendah dibandingkan dengan media bawah jati (Tabel 5).

Pengaruh macam media terhadap komponen akar (Tabel 6.) menunjukkan bahwa senyawa alelopati pada media akasia menekan jumlah dan diameter akar sedangkan pada media bawah eukaliptus hanya menekan jumlah akar. Pada media bawah jati tidak ada perubahan yang berarti. Lisanevork dan Michelsen (1993) menyatakan bahwa alelopati sangat menghambat perpanjangan sel, perbanyak, sel dan pertumbuhan akar kacang-kacangan dan jagung. Pemberian pupuk organik meningkatkan bobot kering akar lebih tinggi dibandingkan pupuk anorganik (NPK) pada ketiga media (Tabel 7, Gambar 1). Hal ini dimungkinkan karena pupuk organik banyak mengandung asam humat yang dapat menurunkan daya racun senyawa alelopati, karena senyawa tersebut mengalami transformasi rantai samping atau termodifikasi sewaktu struktur cincinnya terpotong, sehingga akan terikat kuat dan tidak tersedia dalam larutan (Dalton *et al.*, 1983).

Lambers *et al.* (2000) menyatakan bahwa penghambatan oleh senyawa fenolik terjadi pada proses pembentukan ATP yang dapat menekan hampir semua proses metabolisme dalam sel. ATP merupakan salah satu komponen yang berperan dalam mengikat CO₂, sehingga penghambatan ini menyebabkan jumlah karbohidrat yang berfungsi sebagai bahan bakar dan bahan penyusun struktur sel berkurang. Senyawa fenolik juga dapat menurunkan kandungan klorofil, sehingga menghambat fotosintesis yang dapat dilihat pada reduksi berat kering tanaman (Tabel 7.). Selanjutnya Li *et al.* (1994) menyatakan bahwa, kalau pertumbuhan akar dibatasi oleh persediaan zat yang kurang, maka pertumbuhan tunas relatif akan lebih terbatas dibandingkan daun, sehingga kendala dalam penyerapan hara oleh akar akan berpengaruh rasio akar tajuk.

Tabel 5. Analisis NPK jaringan daun saat panen pule pandak bawah tegakan jati, akasia, dan eukaliptus.

Peubah	Media/Bawah			
	Pupuk	Jati	Akasia	Eukaliptus
N	0	0,68 b	0,47 m	0,55 r
	PO	2,63 a	1,36 l	1,17 q
	NPK	2,88 a	1,91 k	1,98 p
	Rerata	2,06 A	1,25 B	1,23 B
P	0	0,23 c	0,33 k	0,44 q
	PO	0,71 a	0,17 m	0,57 p
	NPK	0,68 b	0,22 l	0,43 q
	Rerata	0,54 A	0,24 C	0,48 B
K	0	0,32 c	0,17 l	0,16 r
	PO	0,47 b	0,32 k	0,23 q
	NPK	0,59 a	0,39 k	0,33 p
	Rerata	0,46 A	0,29 B	0,24 C

Keterangan: Huruf sama pada kolom, masing-masing peubah tidak berbeda nyata pada DMRT 5%.

Tabel 6. Pengaruh media dan pupuk terhadap peubah komponen akar pule pandak bawah tegakan jati, akasia dan eukaliptus.

Peubah	Media/Bawah			
	Pupuk	Jati	Akasia	Eukaliptus
Jumlah akar	0	6,33 b	5,33 l	5,67 q
	PO	9,33 a	7,00 k	6,67 p
	NPK	6,67 b	6,33 kl	6,00 p
	Rerata	7,44 A	6,22 B	6,11 B
Panjang akar (cm)	0	39,33 b	36,33 l	39,33 r
	PO	47,33 a	47,67 k	50,83 p
	NPK	43,83a	43,00 k	41,00 q
	Rerata	43,50 A	42,33 A	43,72 A
Diameter akar (cm)	0	0,60 c	0,47 l	0,60 r
	PO	0,93 a	0,77 k	0,90 p
	NPK	0,70 b	0,70 k	0,77 q
	Rerata	0,74 A	0,64 B	0,76 A

Keterangan: Huruf sama pada kolom, masing-masing peubah tidak berbeda nyata pada DMRT 5%.

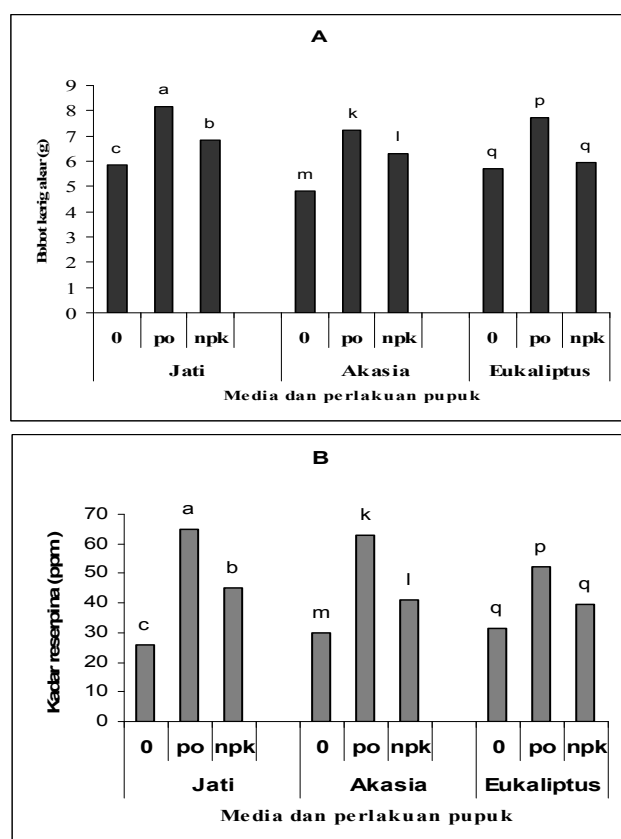
Tabel 7. Pengaruh media dan pupuk terhadap hasil pule pandak bawah tegakan jati, bawa akasia dan eukaliptus.

Peubah	Media/Bawah			
	Pupuk	Jati	Akasia	Eukaliptus
Bobot kering akar (g)	0	5,85 c	4,82 m	5,69 q
	PO	8,17 a	7,25 k	7,73 p
	NPK	6,85 b	6,30 l	5,93 q
	Rerata	6,95 A	6,13 B	6,45 AB
Kadar reserpina (ppm)	0	25,72 c	29,69 m	31,36 q
	PO	64,76 a	62,84 k	52,49 p
	NPK	45,25 b	41,04 l	39,41 q
	Rerata	45,24 A	44,52 A	41,09 A
Bobot reserpina dalam akar (mg/g)	0	0,16 c	0,14 m	0,18 q
	PO	0,51 a	0,45 k	0,40 p
	NPK	0,31 b	0,26 l	0,23 q
	Rerata	0,33 A	0,28 B	0,27 B

Keterangan: Huruf sama pada kolom, masing-masing peubah tidak berbeda nyata pada DMRT 5%.

Kadar reserpina pule pandak pada ketiga media tidak menunjukkan beda nyata (Tabel 7). Hal ini dimungkinkan karena tekanan pertumbuhan tanaman akibat adanya senyawa alelopati pada media akasia dan eukaliptus akan merangsang pembentukan metabolit sekunder dalam hal ini adalah reserpina. Herms dan Mattson (1992) menyatakan bahwa diperlukan suatu kondisi tekanan lingkungan untuk merangsang terbentuknya fungsi pertahanan seperti metabolit sekunder. Meskipun demikian pemupukan yang cukup dapat meningkatkan alkaloid (Hoft *et al.*, 1996). Pemberian pupuk organik akan meningkatkan kadar

reserpina namun pemberian pupuk anorganik NPK peningkatannya lebih kecil dibandingkan dengan tanpa pemupukan (Tabel 7, Gambar 1). Meskipun kadar reserpina ketiga media tidak berbeda nyata namun karena bobot kering akar pule pandak pada media bawah jati lebih tinggi daripada media bawah akasia ataupun eukaliptus, maka bobot reserpina dalam akar pule pandak pada media bawah jati berbeda nyata dan lebih tinggi daripada media bawah akasia dan eukaliptus.



Gambar 1. Hubungan media dengan pupuk organik (po) dan anorganik (NPK) terhadap bobot kering akar (A) dan kadar reserpina (B).

KESIMPULAN

Selain di bawah jati, pule pandak mampu tumbuh pada media bawah tegakan akasia dan eukaliptus. Pemberian pupuk organik 30 t ha⁻¹ mampu meningkatkan pertumbuhan dan hasil pule pandak lebih tinggi daripada pemberian

pupuk anorganik (NPK)200 t ha⁻¹. Sifat alelopati tegakan akasia dan eukaliptus berpengaruh terhadap bobot kering akar namun tidak berpengaruh terhadap kadar reserpina

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Depdiknas yang telah membantu dalam pembiayaan penelitian ini melalui Penelitian Dosen Muda.

DAFTAR PUSTAKA

- Cordell, G.A. 1981. *Introduction to Alkaloids, A Bioenergetic Approach*. New York: A Wiley-Interscience Publication.
- Dalton, B.R., U. Blum, and S.B. Weed. 1983. Allelopathic substances in ecosystems: Effectiveness of sterile soil components in altering recovery of fenolic acid. *Journal of Chemical Ecology* 9: 1185-1199
- Darell, A.M. 1996. Allelopathy in forage crop systems. *Agronomic Journal* 88: 854-859.
- Hardjowigeno, S. 1987. *Ilmu Tanah*. Jakarta: PT. Media Tama Sarana Prakasa.
- Hermes, D.A. W.J. and Mattson. 1992. The dilemma of plants: to growth or defend. *Review on Biology* 67: 283-335.
- Hoft, M., R. Verpoortee, and E. Beck. 1996. Growth and alkaloid contents in leaves of *Tabernaemontana pachysiphon* Stapf (Apocynaceae) as influenced by light intensity, water and nutrient supply. *Oecologia* 107: 160-169.
- Hendrian. 1998. *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz. (Pule Pandak). Eksplorasi 3.1(8). Kebun Raya Bogor.
- Lammers, H., F.S. Chapin III, T.L. Pons. 2000. *Plant Physiological Ecology*. Springer. New York.
- Li, X, Y. Feng, and Borsma. 1994. Partition of photosynthates between shoot and root in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) as a function of soil water potential and root temperature. *Plant Soil* 164: 43-50.
- Lisanework, N. and A. Michelsen. 1993. Allelopati in agroforestry system: the effect of leaf extracts of *Cupressus lusitanica* and three *Eucalyptus* spp. on four Ethiopian crops. *Agroforestry System* 21: 63-74.
- May, F. and E.J. Ash. 1990. An assessment of the allelopathic potential of *Eucalyptus*. *Australian Journal of Botany* 38: 245-254
- Mulliken, T. and P. Crofton, 2008. *Review of the Status, Harvest, Trade and Management of Seven Asian CITES-listed Medicinal and Aromatic Plant Species*. Federal Agency for Nature Conservation. Bonn, Germany. p 93-112
- Rice, E.L. 1984. *Allelopathy*. 2nd ed. London: Academic Press.
- Sarin, Y.K. 1982. Cultivation And Utilization of Medicinal Plants. Regional Research Laboratory Council of Scientific & Industrial Research Jammu-Tawi.
- Sahid, H. and A. Nurhayati. 1992. *Bioteknologi Pertanian* 2. Bogor: PAU IPB.
- Silander, J.A., B.R. Trenbath, and L.R. Fox. 1983. The allelopathic potential of a native plant. *Oecologia* 58: 415.
- Singh, D., R.K. Kohli, and D.B. Saxena. 1991. Effect of *Eucalyptus* oil on germination and growth of *Phaseolus aureus* Roxb. *Plant Soil* 137: 223-227.
- Sheludko Y, I. Gerasimenko, H. Kolskorn, and J. Stockigt. 2002. New alkaloids of the sarpagine group from *Rauvolfia serpentina* hairy root culture. *Journal of Natural Products* 65 (7):1006-1010.
- Tyler, V.E., L.R. Brady, and J.E. Robbers. 1988. *Pharmacognosy*. Philadelphia: Lea & Febiger.
- Yahya, F.A., E. Sandra, dan E.A.M. Zuhud. 2002. Pertumbuhan biomassa dan kandungan alkaloid akar pule Pandak (*Rauvolfia serpentina* Benth) hasil kultur in vitro. *Seminar Nasional XXII TOI. Purwokerto. 11 – 12 Oktober 2002*