

MULTIPLIKASI TUNAS DAN AKLIMATISASI PEGAGAN (*Centella asiatica* L.) PERIODE KULTUR LIMA TAHUN

NATALINI NOVA KRISTINA dan DEDI SURACHMAN

Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik
Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111

ABSTRAK

Pegagan (*Centella asiatica* L.) adalah tanaman obat yang mengandung zat asiaticotik sebagai obat alzheimer dan penghalus kulit. Tanaman ini telah diperbanyak sejak tahun 2000. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Rumah Kaca Kelompok Peneliti Plasma Nutfah dan Pemuliaan, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor dari bulan Januari 2000 sampai dengan Juni 2005. Penelitian ini bertujuan untuk melihat daya multiplikasi tunas setiap periode subkultur dimulai dari tahun kedua sampai periode lima tahun. Media yang digunakan adalah MS + BA 0,1 mg/l. Pengamatan dilakukan pada jumlah tunas, jumlah daun dan visual tunas pada umur 2, 3, 4 dan 5 tahun pada dua periode subkultur setiap tahunnya. Penelitian disusun dengan rancangan acak lengkap, masing-masing terdiri atas 10 botol yang merupakan ulangan dan setiap botol terdiri atas 1 eksplan. Untuk re-media terhadap tanaman yang terlihat berubah digunakan media MS + BA (0; 0,1; 0,2; 0,3) mg/l. Selanjutnya untuk perakaran dilakukan pada media MS + IAA (0,1 dan 0,2); MS + NAA (0,1 dan 0,2) mg/l serta MS + IBA (0,1 dan 0,2) mg/l. Plantlet utuh yang terbentuk selanjutnya diaklimatisasi pada media tanah + pupuk kandang dan tanah + sekam dengan perbandingan 1 : 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daya multiplikasi tunas optimum terjadi pada tahun ketiga, dan memasuki tahun keempat dan kelima menurun yang diiringi dengan perubahan eksplan yang terlihat pada tangkai daun yang terbentuk. Akar terpanjang dan terbanyak yang terbentuk didapat pada media IAA 0,2 mg/l dengan penampilan yang kurus dan rapuh. Keberhasilan aklimatisasi sangat rendah, tetapi plantlet mampu beregenerasi dengan baik dan terlihat tumbuh normal. Dari hasil perbanyakan terlihat bahwa jumlah anak, jumlah daun, panjang stolon dan jumlah bunga lebih tinggi dibandingkan yang tumbuh pada media sekam, berturut-turut : 6,77; 7,30; 46,50 cm dan 8,31. Sementara pada media sekam komponen yang dominan adalah panjang tangkai daun yakni 9,75 cm.

Kata kunci : Pegagan, *Centella asiatica* L., multiplikasi, tunas, aklimatisasi, penyimpanan, Jawa Barat

ABSTRACT

Shoot multiplication and acclimatization of gotuloca (*Centella asiatica* L.) five years after conservation by in vitro culture

Gotuloca (*Centella asiatica* L.) is a medicinal crop containing asiaticotik as alzheimer and skin revitalizer. This crop has been multiplied in vitro since 2000. This research was carried out in the laboratory and glasshouse of Breeding and Germplasm Group in the Indonesian Medicinal and Aromatic Crops Research Institute (IMACRI) from January 2000 to June 2005. The objective of the research was to find out the viability of shoots multiplication after two year to five year period, with media MS + BA 0.1 mg/l. The parameters observed were the number of shoots, the number of leaves at the age 2, 3, 4 and 5 years from two subculture periods every year. The treatments were arranged in a completely randomized design, each replication consisted of 10 bottles and each bottle consisted of 1 explant. After subculture the ex-plant were re-media in medium MS + BA (0; 0,1; 0,2; 0,3) mg/l. The rooting media before glasshouse were : MS + IAA (0,1 and 0,2); MS + NAA (0,1 and 0,2) mg/l; and MS + IBA (0,1 and 0,2) mg/l. The plantlets formed were

acclimatized using soil + cattle manure and soil + rice husk with comparison 1:1. Research result indicated that the optimum viability multiplication was achieved in the third year, and it decreased after the fourth and fifth years with change in explant forming the petiole. The longest and plantlet roots were formed through media IAA 0.2 mg/l with brittle and thin appearance, but the plantlets were able to regenerate better and grow normal. The acclimatization was not very successful but the plantlets could regenerate and grew normally. The multiplication showed that the number of stumps, leaves, stolons and flowers were : 6,77; 7,30; 46,50 cm and 8,31 respectively. In rice husk media the dominant component was pedicle length 9,75 cm.

Key words : Gotuloca, *Centella asiatica* L., multiplication, shoot, acclimatization, conservation, East Java

PENDAHULUAN

Pegagan atau kaki kuda (*Centella asiatica* L.), tumbuh pada tegalan, padang rumput, tepi selokan dan pinggir jalan, merupakan tumbuhan herba tahunan yang menjalar dan berkembang dengan stolon. Khasiat pegagan adalah sebagai anti lupa, memberi umur panjang, adaptogenik, anti-pyretik, anti spasmodik, aphrodisiak, astringent, pem-bersih darah (keracunan logam), diuretik, nervine, sedative, menyembuhkan penyakit lepra, luka luar seperti habis melahirkan dan psoriasis (terbakar) (WINARTO dan SURBAKTI, 2003). Zat asiaticoside, saponin, ascaticosida, asam asiatat dan madekasat adalah bahan aktif yang mampu memacu produksi kolagen dan bermanfaat sebagai protein pemacu proses penyembuhan luka pada manusia (DUKE *et al.*, 2002).

Tanaman ini merupakan salah satu sumber plasma nutfah obat yang perlu dibudidayakan karena kebutuhan sebagai bahan industri obat di samping areal tumbuhnya di alam mulai terkikis dengan adanya pembangunan dan penyempitan areal. Pelestarian tanaman koleksi Balitro dilakukan dalam bentuk koleksi hidup sehingga memerlukan biaya pemeliharaan yang cukup besar dan lahan yang luas. Selain itu cara ini rawan terhadap kehilangan akibat serangan hama penyakit dan perubahan kondisi lingkungan. Penyimpanan *in vitro* merupakan pelestarian yang lebih efektif dan efisien yang tidak memerlukan lahan yang luas telah dilakukan dalam bentuk *in vitro* maupun benih (*seed*).

Keberhasilan penyimpanan *in vitro*, selain untuk mengurangi biaya rejuvansi yang biasanya dilakukan setiap tahun, juga akan sangat membantu dalam penyediaan benih untuk kegiatan penelitian ataupun membantu

menyiapkan teknologi penyimpanan jangka menengah dan panjang seandainya kelak Indonesia memiliki bank gen.

Perbanyakan secara *in vitro* merupakan alternatif untuk mendapatkan tanaman dalam jumlah banyak, dan umumnya untuk multiplikasi tunas digunakan media MS yang diperkaya dengan sitokinin seperti BA, Kinetin dan bahkan Thidiazuron.

Pada tanaman pegagan perbanyakan secara *in vitro* telah dilakukan pada Tahun 2000, yang menghasilkan jumlah tunas tidak berbeda nyata pada media MS kontrol dan dengan penambahan BA (0,1; 0,2 dan 0,3) mg/l (KRISTINA, *et al.*, 2000).

Eksplan pegagan disubkultur secara periodik dengan menggunakan media perbanyakan MS + BA 0,1 mg/l dan disubkultur secara periodik setiap 4 – 6 bulan. Pada penyimpanan dengan cara ini, penampilan eksplan diharapkan tetap normal bila dibandingkan dengan induknya. Andai terjadi perubahan penampilan, maka media tumbuh perlu diganti agar tidak terjadi mutasi. Atau eksplan segera dikeluarkan ke lapang/alam dengan cara aklimatisasi, oleh karena itu perlu dilakukan induksi perakaran.

Induksi perakaran bagi tanaman hasil *in vitro*, dapat dilakukan dengan menggunakan auksin IAA, IBA dan NAA secara tunggal ataupun dikombinasikan dengan sitokinin. Pada beberapa tanaman, seperti tanaman lada, penggunaan media NAA konsentrasi 0,1 mg/l dapat merangsang terbentuknya akar (IBRAHIM, *et al.*, 2004). Sementara pada tanaman purwoceng, akar terpanjang (2,0 cm) didapat pada media MS yang diperkaya dengan NAA konsentrasi 0,6 mg/l (SYAHID *et al.*, 2004). Untuk tanaman legundi, akar tumbuh baik pada media IBA dengan konsentrasi 0,1 mg/l (YELNITITIS dan BERMAWIE, 2000).

Penelitian ini bertujuan untuk melihat kemampuan multiplikasi tanaman pegagan periode tumbuh dua dan lima tahun dan untuk mendapatkan plantlet pegagan hasil kultur *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini terdiri atas 2 kegiatan, yakni kemampuan multiplikasi tunas pegagan periode kultur dua sampai lima tahun dan aklimatisasi tanaman pegagan hasil *in vitro* di rumah kaca, yang dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Rumah Kaca Kelompok Peneliti Plasma Nutfah dan Pemuliaan – Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik dari bulan Januari 2000 sampai dengan Juni 2005. Bahan tanaman adalah pegagan yang telah berhasil diperbanyak secara *in vitro* pada tahun 2000.

Kemampuan Multiplikasi Tunas Pegagan Periode Kultur Dua sampai Lima Tahun

Pada awal tahun, tunas dari tanaman pegagan yang telah diperbanyak secara *in vitro* ini, dikulturkan pada

media MS + BA 0,1 mg/l, dan terdiri atas 10 botol, kultur dipelihara selama 6 bulan. Selanjutnya setelah periode kultur tersebut, eksplan disubkultur pada media baru dengan komposisi yang sama. Sebelum pemindahan eksplan ke media baru, dilakukan pengamatan terhadap jumlah tunas, jumlah tangkai daun dan penampilan secara visual.

Tunas yang telah dipindahkan pada media baru tersebut dipelihara selama 6 bulan dan diamati kembali jumlah tunas, jumlah tangkai daun dan visualisasinya. Kegiatan ini dilakukan sampai tahun ke lima dengan 2 kali subkultur yang dilakukan setiap 6 bulan.

Pada akhir tahun kelima, terlihat adanya perubahan penampilan tunas, sehingga diduga komposisi media yang digunakan sudah tidak tepat, maka perlu dicari komposisi media yang baru agar daya multiplikasi tetap dan penampilan tanaman normal.

Re-media dan Uji Kemampuan Multiplikasi Tunas

Sebelum dilakukan penelitian, eksplan di re-media pada media MS tanpa zat pengatur tumbuh selama 1 bulan, untuk menetralkan kandungan BA pada tunas. Tunas hasil re-media ini, selanjutnya dimasukkan pada media perlakuan:

- MS + BA 0 mg/l
- MS + BA 0,1mg/l
- MS + BA 0,2 mg/l
- MS + BA 0,3 mg/l

Masing-masing perlakuan terdiri atas 10 botol dan setiap botol terdiri atas 1 tanaman. Parameter pengamatan meliputi jumlah tunas dan jumlah tangkai daun. Data dianalisis dengan menggunakan Uji DMRT pada taraf 5%.

Aklimatisasi Tanaman Pegagan Hasil *in vitro* Di Rumah Kaca

Perakaran

Penampilan tanaman berubah, oleh sebab itu tanaman harus dikeluarkan dari laboratorium dan untuk itu perlu didapatkan tanaman utuh (plantlet). Eksplan yang berasal dari hasil multiplikasi tunas pada perlakuan terdahulu diberi perlakuan perakaran, dengan menggunakan media yang diberikan auksin. Konsentrasi auksin yang diberikan pada dua taraf konsentrasi, karena dari hasil pengamatan, tunas pegagan yang ditumbuhkan pada media MS tanpa zat pengatur, terlihat mampu membentuk akar-akar rambut. Oleh karena itu yang dilakukan adalah mencari jenis auksin yang terbaik untuk merangsang pembentukan akar, maka media MS digunakan :

- MS + IAA 0,1 mg/l
- MS + IAA 0,2 mg/l
- MS + IBA 0,1 mg/l
- MS + IBA 0,2 mg/l
- MS + NAA 0,1 mg/l
- MS + NAA 0,2 mg/l.

Masing-masing terdiri atas 10 botol dan setiap perlakuan terdiri atas 1 tanaman. Parameter pengamatan meliputi jumlah akar, panjang akar dan penampilan tanaman.

Aklimatisasi di Rumah Kaca

Plantlet yang terbentuk selanjutnya dikeluarkan dari botol, dicuci bersih untuk membuang sisa-sisa media yang menempel di akar yang akan berpengaruh pada keberhasilan tumbuh. Plantlet yang telah bersih tersebut, ditanam pada media tanah + pupuk kandang 1 : 1, yang telah disterilkan. Plantlet disungkup dengan plastik untuk menjaga kelembaban dan diletakkan di rumah kaca.

Plantlet yang tumbuh dan bermultiplikasi dengan baik, selanjutnya dipindahkan pada media tumbuh yang menggunakan : 1) tanah + pupuk kandang dan 2) tanah + sekam, masing-masing dengan perbandingan 1 : 1. Perlakuan tersebut terdiri atas 10 ulangan dan setiap ulangan terdiri atas 10 polibag. Parameter pengamatan yang dilakukan adalah : jumlah anakan, jumlah daun, panjang tangkai daun, panjang stolon dan jumlah bunga. Data dianalisis dengan menggunakan uji DMRT pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan Multiplikasi Tunas Pegagan Periode Kultur Dua sampai Lima Tahun

Dari hasil analisis data terlihat bahwa daya multiplikasi eksplan pegagan selama periode lima tahun tersebut, berbeda-beda. Dari hasil tersebut terlihat bahwa kemampuan multiplikasi tunas pegagan selama periode lima tahun tersebut lebih tinggi bila dibandingkan dari hasil yang didapatkan pada tahun pertama, yakni 2,35/botol dengan rata-rata jumlah daun 13,85 (KRISTINA *et al.*, 2000).

Jumlah tunas dan daun terbanyak didapatkan pada tahun ketiga yakni 3,8 dan 18,2, jumlah tersebut mulai menurun pada tahun keempat dan kelima. Tetapi jumlah tunas pada tahun keempat masih lebih tinggi bila dibandingkan dengan jumlah tunas pada tahun kedua (Tabel 1).

Hasil yang didapat sejalan bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan NATH dan BURAGOHAIN (2003) yang menggunakan tunas pucuk pegagan dengan konsentrasi BA tinggi yakni 4 mg/l yang dikombinasikan dengan NAA 0,1 mg/l didapat jumlah tunas 3,38 /eksplan dan jumlah daun 4,25/eksplan.

Namun bila dilihat dari visualisasi tunas, maka terjadi penurunan kemampuan tumbuh dari tunas, dengan terbentuknya beberapa tunas yang tidak normal. Penampilan tunas setelah periode lima tahun, terlihat berubah, ditemukan tunas yang kurus, vitrifikasi dan normal, masing-masing 40,01%, 13,33% dan 46, 665, sehingga perlu dilakukan re-media (penyegaran eksplan) (Gambar 1).

Tabel 1. Jumlah tunas dan daun pegagan selama periode lima tahun pada media MS + BA 0,1 mg/l
 Table 1. The number of shoot and leaf gotuloca after five year period in MS medium + BA 0,1 mg/l

Periode kultur (tahun) <i>Culture periode (year)</i>	Jumlah tunas <i>The number of shoot</i>	Jumlah daun <i>The number of leaf</i>	Penampilan tunas <i>Shoot visualization</i>
Tahun kedua			
- Subkultur 1	2.75 g	14.80 e	Hijau, segar daun normal
- Subkultur 2	2.80 f	15.00 d	Hijau, segar daun normal
Tahun ketiga			
- subkultur 1	3. 80 a	18.20 a	Hijau, segar daun normal
- subkultur 2	3.30 c	17.00 b	Hijau, segar daun normal
Tahun keempat			
- subkultur 1	3.10 e	16.20 c	Hijau, segar, sebagian daun bertangkai normal, sebagian lagi tangkai daun mengurus
- subkultur 2	3.70 b	15.00 d	Daun sebagian hijau segar, sebagian pucat, sebagian daun bertangkai normal, sebagian lagi tangkai daun mengurus
Tahun kelima			
- subkultur 1	3.30 c	12.40 g	Daun sebagian hijau, segar, sebagian lagi hijau pucat sebagian daun bertangkai normal, sebagian lagi tangkai daun mengurus, sebagian vitrifikasi
- subkultur 2	3.20 d	10.40 f	Hijau, segar, sebagian daun bertangkai normal, sebagian lagi tangkai daun mengurus, sebagian vitrifikasi
KK CV (%)	19.77	23.86	

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada Uji DMRT taraf 5%
 Note : Numbers followed by the same letters in the same column are not significantly different with DMRT test 5%



Gambar 1. Eksplan pegagan setelah periode kultur lima tahun secara *in vitro*
Picture 1. *Gotuloca* explant after five years in vitro culture

Re-media dan Uji Kemampuan Multiplikasi Tunas

Setelah re-media dan tunas disubkultur kembali pada media dengan berbagai taraf konsentrasi, terlihat bahwa tunas yang mendapat perlakuan konsentrasi zat pengatur tumbuh BA lebih tinggi (0,2 mg/l) terlihat adanya peningkatan jumlah tunas menjadi 4,06, walaupun tidak berbeda nyata bila dibandingkan dengan konsentrasi BA 0,1 mg/l, demikian juga untuk jumlah daun (Tabel 2). Penampilan eksplan belum normal seluruhnya, karena masih terlihat adanya vitrifikasi, tangkai daun kurus, dan daun yang layu, untuk itu eksplan dianggap sudah tidak mampu bermultiplikasi dengan baik, dan perlu dikeluarkan ke lapangan, untuk itu perlu mendapat perlakuan perakaran.

Aklimatisasi Tanaman Pegagan Hasil *in vitro* di Rumah Kaca

Perakaran

Dari hasil pengamatan terlihat bahwa jumlah tunas yang berakar terbanyak ditemukan pada media MS + IAA 0,1 mg/l yakni 1,6/botol dan tidak terlihat perbedaan nyata

pada jumlah akar antar semua jenis auksin dan konsentrasi, tetapi berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Sementara pada panjang akar terlihat cenderung berbeda antar semua jenis auksin, akar terbanyak dan terpanjang didapatkan pada media IAA 0,1 mg/l yakni 1,62 cm (Tabel 3). Secara visual pada semua media perlakuan, bentuk akar terlihat sama, yakni kurus dan rapuh. NATH dan BURAGOHAIN (2003), yang menggunakan tunas pucuk pegagan pada penelitiannya mendapatkan media akar terbaik adalah MS + IBA 2 mg/l dengan jumlah akar 46,8 dan panjang akar 19,7 cm.

Aklimatisasi di rumah kaca

Keberhasilan aklimatisasi di rumah kaca hanya berkisar antara 20 – 40%, salah satu penyebab keadaan ini adalah karena ukuran akar yang pendek sehingga berpengaruh terhadap proses penyerapan unsur hara dari tanah. Sementara dari hasil penelitian NATH dan BURAGOHAIN (2003) aklimatisasi plantlet pegagan asal tunas pucuk pada media yang mengandung tanah + pasir 1 :1, keberhasilannya cukup tinggi dengan kematian di lapang hanya berkisar 1 – 2%.

Tabel 3. Penampilan tunas dan akar pegagan 2 bulan setelah kultur pada media auksin

Table 3. *Visualization of gotuloca roots two month after culture in auxin media*

Media tumbuh (mg/l) <i>Growth medium</i>	Jumlah tunas <i>The number of shoot</i>	Jumlah akar <i>The number of roots</i>	Panjang akar <i>The length of roots</i>
MS (kontrol)	1,20 c	1,30 b	0,62 c
MS + IAA 0,1	1,60 a	8,70 a	1,62 a
MS + IAA 0,2	1,40 b	6,90 a	1,51 ab
MS + IBA 0,1	1,40 b	7,90 a	1,18 b
MS + IBA 0,2	1,40 b	7,90 a	1,35 ab
MS + NAA 0,1	1,20 c	7,30 a	1,23 b
MS + NAA 0,2	1,40b	7,40 a	1,25 ab
KK CV (%)	46,12	41,31	23,54

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata pada Uji DMRT taraf 5%

Note : Numbers followed by the same letters in each column are not significantly different at DMRT test 5%

Tabel 2. Jumlah tunas dan daun pegagan pada tiga konsentrasi BA

Table 2. *The number of shoots and leaves of gotuloca in three BA concentration*

Media tumbuh (mg/l) <i>Growth medium</i>	Jumlah tunas <i>Number of shoots</i>	Jumlah daun <i>Number of leaves</i>	Penampilan eksplan <i>Visualization of explant</i>				
			Tangkai daun kurus <i>Thin petiole (%)</i>	Tangkai daun vitrifikasi <i>Vitrification petiole (%)</i>	Tangkai daun normal <i>Normal petiole (%)</i>	Daun hijau segar <i>Green leaves (%)</i>	Daun layu <i>Withered leaves (%)</i>
MS + BA 0 (kontrol)	1,06 b	5,86 c	30	-	50	40	60
MS + BA 0,1	3,20 a	12,26 a	30	-	70	60	40
MS + BA 0,2	4,06 a	14,93 a	40	10	50	50	50
MS + BA 0,3	3,13 a	9,53 a	10	30	60	60	40
KK CV (%)	43,23	46,21	-	-	-	-	-

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata pada Uji DMRT taraf 5%

Note : Numbers followed by the same letters in each column are not significantly different at DMRT test 5%

Pada tahap awal aklimatisasi, plantlet bertahan hidup dan mampu beregenerasi dengan baik. Kemampuan masing-masing plantlet membentuk stolon tidak sama, stolon yang terbentuk bervariasi dengan rata-rata jumlah stolon baru 3,5. Sementara SUGIARSO dan HUTAPEA (1992) menyatakan bibit pegagan yang ditanam secara konvensional menghasilkan stolon baru 3,33 setelah 20 hari di pesemaian.

Dari hasil pengamatan terlihat bahwa perbanyakan menggunakan pupuk kandang ataupun sekam tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah daun dan panjang tangkai daun umur 4 minggu setelah tanam. Setelah 8 minggu tanam pemberian pupuk kandang baru terlihat berpengaruh nyata terhadap jumlah daun yakni 7,3 per anakan dibandingkan dengan yang ditanam pada media sekam yakni 6,1 anakan (Gambar 2). Tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap panjang tangkai. Demikian juga pemberian pupuk kandang dan sekam tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan jumlah bunga (Tabel 4).



Gambar 2. Penampilan tanaman setelah aklimatisasi di rumah kaca
 Kiri : Tanaman yang diberi media pupuk kandang
 Kanan : Tanaman yang diberi media sekam
 Figure 2. Plant performance after glasshouse acclimatization
 Left : Plant with cattle manure media
 Right : Plant with rice husk media

Stress yang terjadi pada eksplan selama di laboratorium, yakni bentuk daun ataupun tangkai daun yang mengecil/kurus tidak terbawa, sehingga dapat dikatakan bahwa periode penyimpanan selama lima tahun tidak menimbulkan perubahan penampilan tunas (Gambar 2) tetapi perlu uji lebih lanjut terhadap kandungan kadar asiaticisidnya, karena diduga bila tanaman berada pada stress media, maka akan mempengaruhi kadar metabolit pada tanaman.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa daya multiplikasi tunas optimum terjadi pada tahun ketiga dan memasuki tahun keempat dan kelima menurun yang diiringi dengan perubahan eksplan yang terlihat pada tangkai daun yang terbentuk. Akar terpanjang dan terbanyak yang terbentuk didapat pada media IAA 0,2 mg/l dengan penampilan yang kurus dan rapuh. Keberhasilan aklimatisasi sangat rendah, tetapi plantlet mampu beregenerasi dengan baik dan terlihat tumbuh normal.

Dari hasil perbanyakan terlihat bahwa jumlah anakan, jumlah daun, panjang stolon dan jumlah bunga lebih tinggi dibandingkan yang tumbuh pada media sekam, berturut-turut : 6,77; 7,30; 46,50 cm dan 8,31. Sementara pada media sekam komponen yang dominan adalah panjang tangkai daun yakni 9,75 cm.

DAFTAR PUSTAKA

DUKE, J.A., M.J. BOGENSCHUTZ-GODWIN, J. DU CELLIER and P. A. K. DUKE. 2002. Handbook of Medicinal Herbs. Second edition. CRC Press London-New York. pp.344-346.
 IBRAHIM, M. SDI. N.N. KRISTINA dan N. BERMAWIE. 2004. Pengaruh NAA dan IBA terhadap inisiasi akar lada hasil radiasi secara *in vitro*. Prosiding Simposium IV Hasil Penelitian Tanaman Perkebunan. Bogor 28-30 September. Buku 3. hal. 500 – 505.

Tabel 4. Pertumbuhan tanaman setelah aklimatisasi di rumah kaca pada media pupuk kandang dan sekam
 Table 4. The growth of crops after acclimatization in glasshouse in cattle manure and rice husk

Perlakuan Treatment	4 minggu setelah tanam 4 weeks after planting		8 minggu setelah tanam 8 weeks after planting				
	Jumlah daun Number of leaves	Panjang tangkai Pedicle length (cm)	Jumlah daun Number of leaves	Panjang tangkai Pedicle length	Panjang stolon Runner length	Jumlah anakan Number of stumps	Jumlah bunga Number of flowers
Pupuk kandang Cattle manure	1.08 a	0.99 a	7.30a	8.06 a	46.50 a	6.77 a	8.31 a
Sekam Rice husk	1.00 a	1.03 a	6.10 b	9.75 a	31.23 b	4.64 b	4.39 a
KK CV (%)	13.03	55.71	5.83	18.15	9.38	18.16	48.08

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata pada Uji DMRT taraf 5%
 Note : Numbers followed by the same letters in each column are not significantly different at 5% DMRT test

- KRISTINA, N.N., N. SIRAIT dan D. SURACHMAN. 2000. Multiplikasi tunas dan penyimpanan tanaman obat pegagan secara *in vitro*. Jurnal Ilmiah Pertanian Gakuryoku. PERSADA. VI(1): 20-22.
- NATH, S and A.K. BURAGOHAIN. 2003. *In vitro* method for propagation of *Centella asiatica* (L.) Urban by shoot tip culture. J. Plant Biochemistry & Biotechnology (12):167-169.
- SUGIARSO, S. dan J.R. HUTAPEA. 1992. Pengadaan bibit *Centella asiatica* (L.) Urban. Warta TOI. 1 (2): 58.
- SYAHID, S.F., O. ROSTIANA dan D. SESWITA. 2004. Pengaruh NAA dan IBA terhadap perakaran purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk). Prosiding Fasilitasi Forum Kerjasama Pengembangan Biofarmaka. Direktorat Tanaman Sayuran dan Biofarmaka. Dirjen Bina Produksi Hortikultura. Deptan. 2004. p.201-211.
- YELNITITIS dan N. BERMAWIE. 2000. Pengaruh media dan zat pengatur tumbuh terhadap perbanyakan legundi (*Vitex trifolia*) secara *in vitro*. Jurnal Ilmiah Pertanian Gakuryoku VI(1) : 9-12.
- WINARTO, W.P. dan SURBAKTI. 2003. Khasiat dan Manfaat Pegagan. Tanaman Penambah Daya Ingat. Agromedia Pustaka, 64 p.

