

PERBANYAKAN DAN PENYIMPANAN KULTUR SAMBUNG NYAWA [*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.] DENGAN TEKNIK IN-VITRO

[In vitro technique propagation and culture maintainance
of sambungnyawa {*Gynuraprocumbens* (Lour.) Merr.}]

Djadja Siti Hazar Hoesen
Laboratorium Treub
Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Jl. Ir Juanda 18, PO 110, Bogor

ABSTRACT

Sambung nyawa [*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.] is one of the traditional medicine sources. The plants are not cultivated intensively in the field. One of the efforts to maintain and to propagate this species is by multiplication through tissue culture method. Nodes explants were cultured in MS normal and half strength concentration macroelements, supplemented with microelements and vitamins; combination of cytokinin BA (2 mg/1), thidiazuron (0.01 mg/1 and 0.1 mg/1) and adenine sulphate (5 mg/1). Auxin (2,4D 0.5 mg/1) in combination were added in media as treatments and activated charcoal (2 g/1) as antioxidant. Young leaves explants were also cultured in the same basic medium (MS and 'A MS) in treatments with cytokinin (BA and thidiazuron). The results from nodes and young leaves explant indicated that the highest number of survival cultures were obtained from combination between BA (2 mg/1) and thidiazuron (0.01 mg/1) in MS normal strength basic medium.

In acclimatization stage, 100% of plantlets survived and successfully transplanted to soil medium in the field; maintenance study indicated that subculture was prolonged until 52 weeks.

Kata kunci/key words: sambungnyawa/ *Gynura procumbens*, teknik perbanyakan *in-vitro* *in-vitro* technique propagation, penyimpanan kultur/ cultur maintenance, adenine sulfat/ adenine sulphate, 2,4D, benzyl adenine, thidiazuron.

PENDAHULUAN

Pemanfaatan tanaman sebagai bahan obat alami telah dilakukan sejak lama terutama oleh masyarakat yang berdomisili di pedalaman sebagai upaya pertolongan pertama. Tetapi dewasa ini masyarakat perkotaanpun kembali memanfaatkannya bahkan telah banyak produsen/industri jamu tradisional dan kosmetika yang memproduksinya. Ada pula yang berhasil mengekspor produknya terutama ke beberapa negara ASEAN. Dengan demikian ketersediaan bahan baku obat untuk skala industri sangat penting. Saat ini teknik perbanyakan *in-vitro* merupakan salah satu alternatif untuk menyediakan bahan tanaman secara massal dalam waktu yang relatif lebih singkat dibandingkan dengan cara konvensional. Kelebihan dari teknik tersebut di samping dalam kondisi yang aseptis/ bebas patogen, dapat menghasilkan tanaman secara berkesinambungan/berkala. Teknik *in-vitro* dengan mempergunakan berbagai bagian tanaman sangat menguntungkan untuk perbanyakan tanaman dan

teknik tersebut telah berhasil pula memperbanyak sejumlah jenis tanaman yang berkhasiat obat dari beberapa suku seperti *Talinum paniculatum*, *Phyllanthus niruri*, *Curcuma soloensis* dan *Kaempferia galanga* (Gati dan Purnamaningsih, 1996; Hoesen, 1996; Mariska *et al.* 1996). Beberapa jenis tanaman yang termasuk suku Asteraceae yang satu keluarga dengan sambung nyawa seperti *Chrysanthemum*, *Pyrethrum* dan *Gerbera jamesonii* juga telah berhasil diperbanyak dengan cara tersebut (Kyte dan Kleyn, 1996; George, 1996).

Gynura procumbens (Lour.) Merr. termasuk suku Asteraceae yang dimanfaatkan dan dipercaya sebagai tumbuhan yang berkhasiat obat, baik sebagai obat luar ataupun obat yang dimakan. Pipisan daunnya digunakan untuk mengobati demam, penawar rasa sakit; daun dan bagian tanaman lainnya dimakan dan dipercaya dapat menurunkan kadar gula dalam darah. Oleh masyarakat Jawa tumbuhan tersebut dipercaya

berkhasiat mengobati gangguan pada kandung kemih.

G. procumbens mempunyai nama daerah daun sambung nyawa. Tumbuhan ini banyak ditemukan sebagai tumbuhan pengganggu (gulma) di perkebunan tebu di Pulau Jawa, tumbuh liar di selokan, pinggiran hutan dan padang rumput. Dapat tumbuh pula di daerah tinggi hingga mencapai 2800 m dpi, dan tahan terhadap naungan (Davies, 1981; Rosita *et al.*, 1993). Tumbuhan ini biasa diperbanyak dengan stek (batang, pucuk); perbanyakan secara generatif jarang sekali dilakukan karena bijinya belum pernah ditemukan (khususnya di daerah Bogor/Jawa Barat), atau kemungkinan tidak dapat membentuk biji, karena lingkungan dan sifat genetiknya kurang mendukung. Karena perkembangbiakannya berlangsung secara vegetatif, maka bagian-bagian tanaman yang dihasilkan secara genetik adalah identik (Poerba, 1998).

Upaya perbanyakan vegetatif konvensional telah dilakukan oleh beberapa peneliti dan tampaknya dalam skala laboratorium tumbuhan tersebut mempunyai respon yang positif terhadap perlakuan pemupukan (Utami dan Siregar, 1998). Tetapi perbanyakan secara konvensional ini mempunyai kendala yang sangat mengganggu/merugikan yaitu adanya serangan hama ulat yang dapat menurunkan produksi daun dalam waktu yang relatif singkat.

Daun *G. procumbens* mengandung 0,03% minyak atsiri. Hasil analisa kimia menunjukkan bahwa minyak atsiri jenis ini memiliki 22 komponen senyawa yang didominasi oleh *seskuiiterpena* yang tidak menutup kemungkinan berpotensi/mempunyai nilai ekonomi tinggi seperti halnya artemisin dari tumbuhan *Artemisia* yang satu keluarga dengan sambung nyawa (Agusta *et al.*, 1998).

Karena potensi kandungan kimia dan manfaat tumbuhan ini, maka dirasakan penting akan ketersediaan *G. procumbens* untuk bahan baku

industri farmasi, yang tentunya memerlukan bahan tanaman dalam jumlah yang banyak dan berkesinambungan. Perbanyakan dan penyimpanan secara *in-vitro* diharapkan dapat memenuhi ketersediaan bahan baku tanaman dan mengurangi resiko serangan hama/penyakit. Selain untuk usaha perbanyakan, teknik *in-vitro* ini dapat pula dimanfaatkan untuk penyimpanan kultur dan mempelajari variasi genetik melalui kultur kalus.

Dalam tulisan ini dilaporkan hasil percobaan perbanyakan *in-vitro* dan kultur kalus *G. procumbens* dengan cara mengamati respon kultur jaringannya pada medium dasar MS dalam konsentrasi hara makro normal dan ¹A konsentrasi yang diberi tambahan unsur mikro dan vitamin, serta zat pengatur tumbuh sitokinin BA, adenin sulfat, thidiazuron dan auksin (2,4D) sebagai perlakuan; selain itu ditambahkan pula arang aktif sebagai zat antioksidan. Penyimpanan kultur sebagai usaha mengatasi gangguan hama/penyakit telah dilakukan pula yaitu kultur pada media dengan konsentrasi hara makro yang minimal yaitu ¹A dan V* bagian konsentrasi normal formulasi MS. Apabila telah diketahui respon kultur jaringannya maka aplikasi dari teknik ini untuk perbanyakan dan penyediaan bahan baku industri farmasi dalam skala besar, serta aspek biologi lainnya dapat dilakukan.

BAHAN DAN METODA

Bahan eksplan yang digunakan pada percobaan kultur inisiasi ini berupa **buku** tunas (node) dan potongan daun yang berdiameter 1 cm. Bahan eksplan disterilisasi dengan **larutan** 10-15 % klorox selama 10-15 menit serta dibilas air suling 3-4 kali.

Medium dasar yang digunakan adalah MS (Murashige dan Skoog, 1962) **hara** makro konsentrasi normal dan ¹A konsentrasi, sedangkan hara mikro yang dicampurkan berkonsentrasi normal. Ke dalam media dasar formulasi MS tersebut masing-masing ditambahkan 0,4 mg/1

tiamin HC1, 100 mg/1 mio-inositol, 0,5 mg/1 piridoksin HC1, 0,5 mg/1 asam nikotinat, 2 mg/1 glisin, 20 gram/1 gula pasir dan 2 g/1 phyta gel serta zat pengatur tumbuh sesuai perlakuan. Keasaman medium diatur hingga mencapai nilai pH $5,7 \pm 0,1$.

Zat pengatur tumbuh BA, adenin sulfat, thidiazuron, 2,4D dan arang aktif ditambahkan ke dalam medium dengan kombinasi perlakuan seperti di bawah ini:

I. Media Kultur inisiasi eksplan buku tunas dan potongan daun

-',MS (kontroll)

- V_2 MS + BA 2 mg/1 + thidiazuron 0,01 mg/1
- X A MS + BA 2 mg/1 + thidiazuron 0,01 mg/1

- 1 MS (kontrol II)

- 1 MS + BA 2 mg/1 + thidiazuron 0,01 mg/1
- 1 MS + BA 2 mg/1 + thidiazuron 0,01 mg/1 + 2,4 D 0,5g/l

Subkultur pertama dilakukan pada kultur yang berasal dari eksplan buku tunas yang berumur 8 minggu dengan kombinasi perlakuan sebagai berikut:

II. Media Eksplan buku tunas pada subkultur kel

- V_x MS
- V_i MS + BA 2 mg/1 + thidiazuron 0,01 mg/1
- V_i MS + BA 2 mg/1 + adenin sulfat 5 mg/1 + thidiazuron 0,01 mg/1 + 2,4 D 0,5 mg/1
- Y_2 MS + BA 2 mg/1 + adenin sulfat 5 mg/1 + thidiazuron 0,1 mg/1
- $\frac{1}{2}$ MS + BA 2 mg/1 + adenin sulfat 5 mg/1 + thidiazuron 0,1 mg/1 + arang aktif 2 g/1
- IMS
- 1 MS + BA 2 mg/1 + thidiazuron 0,01 mg/1
- 1 MS BA 2 mg/1 + adenin sulfat 5 mg/1 +

thidiazuron 0,01 mg/1 + 2,4 D 0,5 mg/1

- 1 MS + BA 2 mg/1 + adenin sulfat 5 mg/1 + thidiazuron 0,1 mg/1
- 1 MS + BA 2 mg/1 + adenin sulfat 5 mg/1 + thidiazuron 0,1 mg/1 + arang aktif 2 g/1

III. Media sub kultur ke 2 dan penyimpanan

- Media dasar Knudson's - C (makro dan mikro) + air kelapa (150 ml/1) + pisang (100 gr/1)
- Media MS $\frac{1}{A}$ dan $\frac{1}{A}$ konsentrasi hara makro.

Percobaan perbanyakkan diulang 10 kali, penghitungan dilakukan setelah kultur berumur 8 minggu dengan peubah yang diamati adalah berat basah kultur dan jumlah tunas. Dari nilai rata-rata tersebut dihitung nilai galat bakunya.

Kultur disimpan dalam ruangan yang bersuhu 27-28 °C dan dengan pencahayaan lampu TL 40 watt selama 12 jam/hari.

Kultur tahap inisiasi diamati perkembangannya hingga 8 minggu dari saat ditanam, kemudian dihitung jumlah dan berat basah tunasnya. Dari nilai rata-rata berat basah kultur dan jumlah tunas dihitung nilai galat bakunya dan dianalisa dengan uji kontras (SAS).

Subkultur kedua dilakukan pada saat kultur berumur 10 minggu dari subkultur pertama pada media modifikasi Knudson yang diberi tambahan pisang 100 g/1, air kelapa 150 ml/1 dan arang aktif 2 g/1. Media MS X A dan V^* konsentrasi hara makro tanpa zat pengatur tumbuh digunakan untuk penyimpanan kultur. Untuk percobaan penyimpanan nilai rata-rata diperoleh dari kultur setelah penyimpanan 52 minggu, sedangkan pengamatan dilakukan setiap 8 minggu. Sedangkan kalus yang terbentuk dipindahkan pada media dasar MS dan $\frac{1}{A}$ MS unsur makro tanpa zat pengatur tumbuh.

Unsur makro yang digunakan*

Medium dasar formulasi	MS (mg/l)	Medium dasar Knudson	
KNO ₃	1900	CaNO ₃ 4H ₂ O	1000 mg/l
MgSO ₄ 7H ₂ O	370	MgSO ₄ 7H ₂ O	250 mg/l
NH ₄ NO ₃	1650	(NH ₄) ₂ SO ₄	500 mg/l
KH ₂ PO ₄	170	KH ₂ PO ₄	0,1 M
CaCl ₂ H ₂ O	440	K ₂ HPO ₄	0,1 M
		Fe(SO ₄)7H ₂ O	25 mg/l

Unsur mikro yang digunakan

MnSO ₄ H ₂ O	13,2 (mg/l)	MnSO ₄ H ₂ O	5,7 (mg/l)
ZnSO ₄ 7H ₂ O	2ug	ZnSO ₄ 7H ₂ O	331 (mg/l)
KI	0,75 (mg/l)		
H ₃ BO ₃	3 ug	H ₃ BO ₃	56 ug
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,025 ug	CuSO ₄ 5H ₂ O	40 (mg/l)
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0,25 ug	MoO ₃ /H ₂ MoO ₄	16 (mg/l)

* Diadopsi dari George (1996).

Tunas yang berakar dipindahkan pada media pasir yang dicampur arang sekam dengan perbandingan 1:1, dan disimpan di tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung, 4-6 minggu kemudian dipindahkan secara bertahap ke lapangan.

HASIL

Pada pengamatan minggu kedua sampai keempat secara visual, tampak sejumlah tunas telah terbentuk terutama pada kultur dari eksplan buku tunas yang diberi perlakuan penambahan sitokinin. Pada saat yang sama kalus yang berwarna kuning dan bertekstur remah juga mulai terbentuk pada kultur yang diberi tambahan auksin. Sedangkan pada kultur yang berasal dari eksplan potongan daun tampak bakal-bakal tunas yang 'embryoid' telah terbentuk. Nilai rata-rata berat basah dan jumlah tunasnya meningkat pada kultur dari kedua macam eksplan (buku tunas, potongan daun) dalam media yang diberi perlakuan penambahan sitokinin BA, adenin sulfat, dan thidiazuron pada medium dasar konsentrasi hara makro normal ataupun Vi konsentrasi; bila dibandingkan dengan nilai rata-rata masing-masing kontrol (MS dan Vi MS) (Tabel 1, 2).

Perlakuan penambahan auksin (2,4 D 0,5 mg/l) ke dalam medium berhasil membentuk kalus, tetapi kalus tersebut belum berhasil membentuk tunas, berat basah kalus paila kultur dalam hara

makro konsentrasi normal lebih tinggi dibandingkan dengan hara makro V2 konsentrasi, begitu pula dengan struktur kalusnya yang agak berbeda yaitu lebih padat.

Penambahan arang aktif sebagai antioksidan, cenderung menurunkan rata-rata berat basah dan jumlah tunas pada kultur (Tabel 1), tetapi secara visual ukuran tunas cenderung lebih besar/lebih tinggi bila dibandingkan dengan kultur dalam media tanpa arang aktif.

Hasil subkultur ke dua menunjukkan bahwa modifikasi dari media dasar Knudson (George, 1996) dapat pula digunakan untuk perbanyakan sambung nyawa, setelah 6 minggu dari saat subkultur ke dua tampak tunas ganda/tunas samping terbentuk dengan jumlah rata-rata (80-90) dan sejumlah akar (40-60) berhasil terbentuk. Planlet/tunas berakar yang mempunyai rata-rata tinggi 9-10 cm, serta daunnya yang berdiameter 1,1-1,5 cm didapatkan pada kultur yang ditanam dalam medium modifikasi Knudson yang diberi tambahan air kelapa 150 ml/l, pisang 100 g/l dan arang aktif. Planlets tersebut berhasil hidup pada medium pasir yang dicampur arang sekam dan media kompos campur tanah.

Kultur pada media untuk percobaan penyimpanan yaitu media yang mengandung hara makro I2 dan V* bagian konsentrasi media dasar formulasi MS, tampak bahwa jumlah tunas yang

terbentuk jumlah rata-ratanya lebih kecil dibandingkan dengan kultur pada media yang mengandung hara makro konsentrasi normal (Tabel 4). Kultur tersebut dapat bertahan hidup dengan

kondisi yang relatif baik hingga 52 minggu setelah pemindahan dan setelah tahap penyimpanan tersebut, kultur mempunyai respon yang baik pada media yang mengandung hara konsentrasi normal.

Tabel 1. Pengaruh perlakuan zat pengatur tumbuh sitokinin terhadap pertumbuhan dan perkembangan tunas eksplan buku tunas *G. procumbens*.

Media dasar	BA (mg/l)	Thidia-zuron (mg/l)	Rataan berat basah (g)±gb	Rataan jumlah tunas±gb
1/2MS	0	0,00	1,02±0,02a	3,02±0,08 a
1/2MS	2	0,01	6,36±0,24 c	83,00±1,01 c
IMS	0	0,00	2,02±0,02 b	6,60±0,27 b
IMS	2	0,01	10,49±0,10d	100,40±4,70 d

Keterangan: gb = galat baku

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada uji Kontras $P \leq 5\%$.

Tabel 2. Pengaruh perlakuan zat pengatur tumbuh sitokinin terhadap pertumbuhan dan perkembangan tunas adventif eksplan potongan daun *G. procumbens*

Media dasar	BA (mg/l)	Thidiazuron (mg/l)	Rataan berat basah (gram)±galat baku	Rataan jumlah tunas±galat baku
14MS	0	0,00	1,14±0,03 a	9,60±0,19 a
1/2 MS	2	0,01	4,80±0,19 c	19,80±0,55 b
IMS	0	0,00	2,15±0,04b	20,40±0,17 b
IMS	2	0,01	10,4±0,21 d	49,20±0,97 c

Keterangan: gb = galat baku.

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada uji Kontras nilai $P \leq 5\%$.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan zat pengatur tumbuh sitokinin, auksin dan arang aktif terhadap pertumbuhan dan perkembangan tunas eksplan buku tunas *G. procumbens* pada 8 minggu dari saat subkultur pertama.

Media dasar	BA (mg/l)	Adenin sulfat (mg/l)	2,4 D (mg/l)	Thidia-zuron (mg/l)	arang aktif (g/l)	Rataan berat basah (g)±gb.	Rataan jumlah tunas±gb.
14 MS	0	0	0	0,0	0	1,12±0,06 a	9,54±0,60 b
1/2MS	2	0	0,5	0,01	0	5,75±0,60 be	0,00±0,00 a*
1/2MS	2	5	0,0	0,01	0	6,4±0,34 c	76,2±1,00 d
14 MS	2	0	0,0	0,10	0	8,85±0,04 d	106,2±1,04 ef
1/2MS	2	5	0,0	0,10	2	1,08±0,02 a	6,84±0,4 b
IMS	0	0	0,0	0,00	0	2,03±0,04 ab	17,00±0,3 c
IMS	2	0	0,5	0,01	0	7,03±0,10cd	0,00±0,00 a*
IMS	2	5	0,0	0,01	0	10,65±0,04 e	82,90±0,30 e
IMS	2	0	0,0	0,10	0	10,88±0,1 e	122,2±1,6 f
IMS	2	5	0,0	0,10	2	1,65±0,04 a	7,02±0,47 b

Keterangan: * = kalus; gb = galat baku.

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada uji Kontras nilai $P \leq 5\%$.

Tabel 4. Pengaruh perlakuan media yang mengandung hara makro minimal terhadap pertumbuhan tunas kultur *G. procumbens*

Media dasar	Rataan berat basah (g)±gb.	Rataan jumlah tunas±gb.
1/2 MS	0,92±0,02	6,60 ±0,06
1/2 MS	1,23±0,24	10,12±0,31
IMS	2,12±0,02	18,70±0,27

PEMBAHASAN

Perlakuan penambahan sitokinin BA, adenin sulfat, dan thidiazuron pada kultur dalam medium dasar konsentrasi hara makro nonnal ataupun Vi konsentrasi dapat mendorong pembentukan tunasnya; hal ini ditunjukkan dengan meningkatnya nilai rata-rata berat basah kultur dan jumlah tunasnya, baik pada kultur dari eksplan buku tunas ataupun eksplan potongan daun bila dibandingkan dengan nilai rata-rata masing-masing kontrolnya.

Penambahan zat pengatur tumbuh sitokinin pada percobaan kultur sambung nyawa ini yaitu kombinasi antara BA (2 mg/l), thidiazuron (0,1 dan 0,01) mg/l dan atau tanpa adenin sulfat (5 mg/l) berpengaruh positif terhadap pertumbuhan dan perkembangan tunas pada kultur kedua macam eksplan yang dicobakan, sesuai dengan hasil pengamatan Bhojwani dan Razdan (1983) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang ditambahkan pada media kultur, maka jumlah tunas yang terbentuk semakin bertambah. Tetapi masing-masing pertumbuhan tunasnya terhambat. Ini terlihat pada nilai rata-rata berat basah dan jumlah tunasnya (Tabel 1 dan Tabel 2).

Selain zat pengatur tumbuh yang menentukan keberhasilan kultur secara *in-vitro* antara lain adalah garam-garam mineral makro dan mikro yang terdapat dalam media dasar turut mempengaruhinya pula. Dari beberapa penelitian ditemukan bahwa nitrogen/senyawa nitrogen dan rasio antara amonium dengan nitrat dapat mempengaruhi terjadinya diferensiasi, dediferensiasi, pertumbuhan dan perkembangan eksplan atau pembentukan organnya. Konsentrasi amonium merupakan hal yang menentukan dalam pembentukan tunas *in-vitro* yaitu dalam konsentrasi yang tinggi dapat meningkatkan sintesa sitokinin (Preece, 1995). Keadaan ini teramati pula pada percobaan perbanyakan *G. procumbens* di mana kultur dalam medium dasar MS yang konsentrasi hara makro nonnal cenderung lebih baik bila dibandingkan

dengan kultur dalam media dasar hara makro 'A bagian dengan perlakuan zat pengatur tumbuh yang sama. Keadaan ini teramati pula pada kultur tanaman kentang (Lillo, 1989 *sitasi* Preece, 1995). Pembentukan organ-organ baru dipengaruhi pula oleh faktor dari sumber eksplannya, auksin dan/atau sitokinin baik yang ada dalam medium atau secara endogen (dalam jaringan tanaman); hal ini teramati pula pada kultur *G. procumbens* di mana tunas yang terbentuk dari kultur eksplan buku tunas nilai rata-rata berat basah dan jumlah tunasnya cenderung lebih tinggi bila dibandingkan dengan kultur yang berasal dari eksplan potongan daun. Peranan auksin dalam morfogenesis mengarah pada pembentukan kalus atau akar, hal ini juga terjadi pada kultur yang diberi tambahan 2,4D 0,5 mg/l tidak membentuk tunas tetapi membentuk kalus (George, 1996).

Kecenderungan menurunnya bobot basah kultur pada media yang mengandung arang aktif, diduga bahwa arang aktif mereduksi zat pengatur tumbuh tetapi morfologi tunasnya cenderung lebih besar. Pengaruh arang aktif ini teramati pula pada kultur apokat (Witjaksono, 1991) dan *Caryota no* (Hoesen, 1997).

Kultur pada media dengan hara minimal sering digunakan untuk penyimpanan kultur jangka pendek sampai menengah dan teknik ini berhasil pula memperpanjang waktu subkultur pada kultur beberapa kultivar pisang (Hoesen, 2000).

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian perbanyakan *in-vitro* *G. procumbens* ini dapat disimpulkan bahwa, dengan teknik *in-vitro* pada media dengan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang tepat perbanyakan massal dapat berhasil dengan baik terutama pada kultur yang diberi perlakuan sitokinin. Planlets yang terbentuk berhasil ditanam pada medium pasir campur arang sekam. Percobaan penyimpanan kultur dengan konsentrasi hara makro minimal dapat digunakan untuk menyimpan kultur dalam jangka waktu pendek dan menengah, sebagai usaha mengatasi kendala di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta **A**, Jamal **Y** dan Harapini **M**, 1998. Komponen Minyak Atsiri Daun Dewa (*Gynura procumbens*) dan Kirinyu (*Tithonia diversifolia*). *Laporan Teknik Proyek Penelitian, Pengembangan dan Pendayagunaan Biota Darat Tahun 1997/1998*. Puslitbang Biologi-LIPI Bogor. Him. 328-333.
- Bhojwani **SS** and Razdan **MK**, 1983. *Plant Tissue Culture Theory and Practice*. Elsevier Scientific Publishing. Amsterdam.
- Davies **FG**, 1981. The Genus *Gynura* (*Compositae*) in Malesia and Australia. *Kew Bulletin* 354 (4), 711-736.
- Gati **E** dan Purnamaningsih **R**, 1996. Respon Jaringan *Talinum paniculatum* pada Media Dasar MS dan Monier. *Prosiding Simposium dan Seminar APINMAP I*, 298-305.
- George **EF**, 1996. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Part 1. Exegetic, Edington, England.
- Hoesen **DSH**, 1996. Kultur Jaringan Meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Prosiding Simposium PERHIPBA*, 92-95.
- Hoesen **DSH**, 1997. Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas Kultur Embrio *Caryota no* Becc. *Berita Biologi* 4 (1), 45-51.
- Hoesen **DSH**, 2000. Penyimpanan Plasma Nutfah *Musa* spp. Kultivar Ambon, Raja dan Tanduk secara In-Vitro dengan Metode Pertumbuhan Minimal. Dalam: *Panduan Simposium Nasional Pengelolaan Plasma Nutfah dan Pemuliaan*, Bogor, 22-23 Agustus 2000. PERIPI-Badan Litbang Pertanian-Dirjen Perkebunan-Komnas Plasma Nutfah.
- Kyte **L** and Klejn **J**, 1996. *Plants from Test Tube*. Timber. Portland. Him. 240.
- Murashige **T** and Skoog **F**, 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum* 15,473-497.
- Mariska **I**, D Seswita dan E Gati, 1996. Aplikasi Kultur Jaringan untuk Perbanyak Klonal Tanaman Kencur. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 3 (2), Pokjanas TOI.
- Poerba **YS**, 1998. Studi Korelasi Sifat-Sifat Vegetatif Tanaman Daun Dewa [*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.]. *Laporan Teknik Proyek Penelitian, Pengembangan dan Pendayagunaan Biota Darat Tahun 1997/1998*. Puslitbang Biologi-LIPI. Him. 371.
- Preece **JE**, 1995. Can Nutrients Salts Partially Substitute for Plant Regulators? *Plant Tissue Culture and Biotechnology* 1 (1), 26-27.
- Rosita **SMD**, Rostiana **O** dan Wahid **P**, 1993. Taman Obat Keluarga (TOGA). *Booklet BALITTRO*.
- Utami dan Hartutiningsih-M Siregar, 1998. Upaya Meningkatkan Produktivitas Daun Dewa [*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.] dengan Pemupukan. *Laporan Teknik Proyek Penelitian, Pengembangan dan Pendayagunaan Biota Darat Tahun 1997/1998*. Puslitbang Biologi-LIPI. Him. 384.
- Witjaksono, 1991. Medium Kultur Jaringan apokat (*Persea americana* Mill.) cv. Pinkerton. *Prosiding Seminar Tlmiah dan Kongres Nasional Biologi X*, 411-417.