

KOMUNIKASI PENDEK

Perbanyak Tanaman *Artemisia annua* secara *In Vitro*

Rossa Yunita dan Endang G. Lestari

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

ABSTRACT

***In Vitro* Propagation of *Artemisia annua*. Rossa Yunita and Endang G. Lestari.** Artemisinin, an anti-malarial medicine isolated from the annual wormwood *Artemisia annua*, has a marked activity against chloroquine-resistant and chloroquine-sensitive strains of *Plasmodium falciparum*. This compound is useful for treatment of cerebral malaria. An *in vitro* propagation system for *A. annua* has been developed. Shoots were induced by culturing seeds of *A. annua* on a MS medium containing BAP (0, 0.1, 0.3, 0.5 mg/l). Shoots were also formed on each seedling cultured on the same medium. Root formations were obtained from shoots that were subcultured on a MS medium containing IBA (0, 1.0, 1.5, 2 mg/l). The results showed that MS medium supplemented with BAP 0.3 mg/l was the best medium for induction and multiplication of the shoots, while the MS medium supplemented with IBA (1 mg/l) was good for root formations.

Key words: *Artemisia annua*, micropropagation.

PENDAHULUAN

Artemisia annua L. merupakan tanaman yang tergolong dalam suku *Asteraceae*. Daunnya berbentuk oval, lonjong, panjang sekitar 10-18 cm dan lebar 5-15 cm, ujung runcing, pangkal tumpul. Daun atau seluruh bagian tanaman mengandung saponin, flavonoid, polyfenol, dan minyak atsiri. *Artemisia* merupakan penghasil artemisinin dan minyak esensial (Simon *et al.* 1990). Artemisinin merupakan produk metabolit sekunder yang mempunyai keunggulan antara lain cepat menghilangkan gejala klinis dan cepat mengeliminasi parasit dalam darah.

Artemisinin telah digunakan sebagai obat anti malaria di Cina dan Vietnam karena tidak memberikan efek samping (Klayman 1985). Penggunaan artemisinin sebagai obat anti malaria merupakan suatu langkah pengobatan yang efektif karena dianggap tidak menimbulkan efek samping yang berat seperti kina atau klorokuin yang selama ini digunakan. Pada saat ini beberapa parasit malaria seperti *Plasmodium falciparum* (penyebab malaria tropika) telah resisten terhadap klorokuin sehingga perlu dikembangkan obat anti malaria lainnya.

A. annua umumnya diperbanyak secara konvensional baik secara vegetatif maupun generatif akan tetapi kedua jenis perbanyakan tersebut menghadapi kendala. Perbanyakan dengan biji akan sulit mendapatkan bibit yang seragam. Perbanyakan melalui stek batang akan menghasilkan tanaman yang sama dengan induknya tetapi perbanyakan dengan cara ini akan merusak tanaman induk dan dalam waktu yang singkat dan sulit menghasilkan bibit dalam jumlah banyak. Untuk memenuhi kebutuhan bibit *A. annua*, kultur jaringan dapat dipakai sebagai teknologi pilihan. Pemanfaatan kultur jaringan untuk perbanyakan dan produksi metabolit sekunder telah dilakukan terhadap beberapa spesies *Artemisia* di antaranya pada *A. judaica*, menggunakan media MS cair dan bioreaktor untuk multiplikasi tunas (Liu *et al.* 2003a). Liu *et al.* (2003b) melakukan multiplikasi pada *A. annua* untuk produksi metabolit sekunder pada media MS yang diperkaya dengan BA 0,5 mg/l+ NAA 0,05 mg/l.

Menurut George dan Sherrington (1984) perbanyakan tanaman secara *in vitro* memiliki banyak keuntungan di antaranya (1) bahan tanaman yang digunakan lebih kecil sehingga tidak merusak pohon induk, (2) lingkungan tumbuh dalam kultur *in vitro* aseptik dan terkontrol, (3) kecepatan perbanyakannya tinggi, (4) dapat menghasilkan bibit bebas penyakit dari induk yang sudah mengandung patogen internal, dan (5) membutuhkan tempat yang relatif kecil untuk menghasilkan bibit dalam jumlah besar.

Keberhasilan teknologi kultur jaringan, dipengaruhi oleh sejumlah faktor yang kompleks. Dua faktor di antaranya adalah faktor nutrisi dan senyawa organik termasuk zat pengatur tumbuh. Kandungan hara makro dalam medium sangat dibutuhkan untuk terjadinya proses morfogenesis, terutama kandungan nitrogen total, khususnya konsentrasi ion amonium (George dan Sherrington 1984). Dalam kultur tunas penambahan sitokinin tunggal tanpa auksin dapat memacu pengandaan tunas aksilar yang optimal karena penambahan sitokinin dapat menghilangkan dormansi tunas apikal (Pierik 1987).

Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan konsentrasi BA yang optimum untuk multiplikasi tunas dan konsentrasi IBA yang optimum untuk induksi perakaran.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan dari Januari hingga Oktober 2006 di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-Biogen). Bahan tanaman yang digunakan adalah biji tanaman *A. annua* yang berasal dari satu pohon koleksi Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor. Penelitian terdiri beberapa tahap yang berurutan, yaitu perkecambahan biji, multiplikasi tunas, perakaran, dan aklimatisasi planlet. Inkubasi biakan dilakukan pada $25 \pm 2^\circ\text{C}$, intensitas cahaya 1.000 lux selama 16 jam.

Biji dikecambahkan pada media dasar MS (Murashige dan Skoog 1962) dan $\frac{1}{2}$ MS ditambah vitamin grup B (asam nikotinat 0,5 mg/l, thiamin HCl 0,1 mg/l, piridoksin 0,5 mg/l, glisin 2 mg/l), mio-inositol 100 mg/l, sukrosa 3%, dan phytigel 0,2%. Kecambah yang telah tumbuh dipilih yang mempunyai ukuran seragam kemudian disubkultur ke dalam media MS yang diperkaya dengan zat pengatur tumbuh benzil amino purin (BAP) pada konsentrasi 0, 0,1, 0,3, dan 0,5 ppm. Masing-masing perlakuan diulang 5 kali. Setelah 7 minggu masa tanam dilakukan pengamatan terhadap jumlah tunas, tinggi tunas, dan jumlah buku. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji lanjut BNJ.

Pada percobaan multiplikasi tunas, eksplan yang digunakan adalah tunas *in vitro* dari percobaan pertama. Batang dipotong sepanjang ± 1 cm (memiliki 2 buku) kemudian ditanam pada media dasar MS dengan penambahan BAP 0, 0,1, 0,3, dan 0,5 ppm. Masing-masing perlakuan diulang 5 kali. Peubah yang diamati adalah jumlah tunas, tinggi, dan jumlah buku tanaman. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji lanjut BNJ.

Pada percobaan induksi perakaran, tunas dengan tinggi lebih dari 5 cm diisolasi pucuknya kemudian ditanam ke media perakaran, yaitu media dasar MS dengan penambahan IBA 0,5, 1,0, 1,5, dan 2,0 ppm. Peubah yang diamati adalah persentase eksplan berakar, jumlah, panjang, dan visualisasi akar. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji lanjut BNJ.

Pada tahap selanjutnya, planlet yang dihasilkan diaklimatisasi di rumah kaca. Sebanyak 30 planlet ditanam dalam polibag yang berisi tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 1 : 1. Agar bibit dapat beradaptasi maka bibit disungkup terlebih dahulu selama 1-2 minggu, dan setelah bibit menunjukkan pertumbuhan yang baik maka sungkup dibuka.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada perkecambahan biji, media tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap persentase perkecambahan biji, yaitu sebesar 96,4% (MS) dan 96% ($\frac{1}{2}$ MS). Analisis statistik terhadap jumlah tunas menunjukkan bahwa pemberian BAP hingga 0,3 ppm mampu menginduksi terbentuknya tunas paling banyak (4,4) dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya (Tabel 1). Di samping jumlah tunas yang lebih banyak, perlakuan BAP 0,3 ppm juga menghasilkan rata-rata tinggi tunas dan jumlah buku yang lebih banyak dari perlakuan lainnya. Penampilan tunas yang mengalami multiplikasi ditampilkan pada Gambar 1A. Hasil penelitian Gonzales *et al.* (2003), pemberian BAP hingga 0,5 ppm mampu meningkatkan multiplikasi tunas tetapi peningkatan BAP lebih dari 0,5 ppm cenderung menurunkan jumlah tunas *A. absinthium* L. Konsentrasi BAP 0,3 ppm juga menghasilkan jumlah buku yang lebih banyak dari perlakuan lainnya, yaitu 7 dan berbeda nyata dari perlakuan lainnya. Dalam perbanyak tanaman secara *in vitro* buku ini sangat penting, bila multiplikasi tunas yang dihasilkan masih sedikit maka produksi tunas selanjutnya dapat dihasilkan dari buku yang digunakan untuk eksplan baru.

Pemberian BAP 0,3 ppm menghasilkan rata-rata jumlah tunas terbanyak (4,2) dan hal yang sama juga terjadi pada jumlah buku yang dihasilkan (Tabel 2). Menurut Brossard *et al.* (1996) dengan subkultur maka laju pertumbuhan jaringan tanaman dapat ditingkatkan. Berdasarkan jumlah kelipatan tunas yang dapat dihasilkan dari setiap periode subkultur maka jumlah bibit yang dapat dihasilkan pada satuan waktu tertentu dapat diperkirakan (Hobir *et al.* 1992).

Untuk pembentukan akar menunjukkan bahwa biakan tanaman *A. annua* tidak sulit berakar. Hal ini

Tabel 1. Pengaruh BAP terhadap pertumbuhan kecambah *A. annua*, umur 7 minggu.

Konsentrasi BAP (ppm)	Rataan jumlah tunas	Rataan tinggi tanaman	Rataan jumlah buku
0	1,0a	2,4a	4,4a
0,1	1,4a	2,0a	3,6a
0,3	4,4b	4,0b	7,0b
0,5	1,8a	3,6b	4,8a
KK (%)	2,3	21	1,36

Angka-angka pada satu lajur yang diikuti oleh huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji beda nyata BNJ.

terbukti ketika 60% tunas yang dikulturkan pada media MS tanpa IBA mampu menghasilkan akar walaupun akar yang dihasilkan pendek dan memiliki sedikit rambut akar. Hal ini diperkirakan karena tanaman ini mengandung auksin endogen yang cukup untuk menginduksi terbentuknya akar.

Analisis statistik menunjukkan bahwa penggunaan IBA 1 mg/l memberikan pengaruh nyata terhadap rata-rata jumlah dan panjang akar. Pada perlakuan ini biakan yang berakar mencapai 100% dan akar yang dihasilkan relatif lebih panjang dengan rerata panjangnya 5 cm dan rerata jumlah akar 6,8 (Tabel 3), serta memiliki rambut akar yang banyak. Hasil yang sama juga diperoleh oleh Liu *et al.* (2003). untuk induksi perakaran terbaik untuk tunas *A. judaica* adalah media

dasar MS dengan penambahan IBA 1 mg/l. Peningkatan kandungan IBA lebih dari 1 mg/l cenderung menurunkan kemampuan biakan membentuk akar. Penampilan planlet dari perlakuan IBA 1 mg/l terdapat pada Gambar 1B.

Pada tahap aklimatisasi, planlet yang bertahan hidup hingga 7 minggu sebanyak 80% (24 tanaman). Planlet yang mempunyai akar lebih dari 5 cm lebih cepat beradaptasi apabila dibandingkan dengan yang akarnya pendek. Pada minggu ke-5 setelah tanam, rata-rata tinggi tanaman mencapai 7,5 cm, jumlah daun 11,5 buah, dan jumlah tunas 1 buah. Bibit hasil aklimatisasi tampak segar dan daun berwarna hijau (Gambar 1C).



Gambar 1. Tanaman *A. annua* hasil perbanyakan secara *in vitro*. Tunas majemuk (A), planlet (B), dan bibit di polibag (C).

Tabel 2. Pengaruh zat pengatur tumbuh BAP terhadap pertumbuhan tunas *in vitro* *A. annua*, umur 4 minggu.

Konsentrasi BAP (ppm)	Rataan jumlah tunas	Rataan tinggi tunas (cm)	Rataan jumlah buku
0	1,4a	1,4ab	2,2a
0,1	2a	2,0ab	3,3ab
0,3	4,2b	3,0a	2,0a
0,5	2,8b	2,6b	2,0a
KK (%)	25,9	30,9	19,97

Angka-angka pada satu lajur yang diikuti oleh huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji beda nyata BNJ.

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi IBA pada pembentukan akar *A. Annua*, umur 4 minggu.

Konsentrasi IBA (ppm)	Persentase eksplan berakar (%)	Rataan jumlah akar	Rataan panjang akar (cm)
0,5	60	1,4a	1a
1	100	6,8b	5b
1,5	60	1,8a	2,2a
2	60	1,8a	1,6a
KK (%)		51,2	40,3

Angka-angka pada satu lajur yang diikuti oleh huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji beda nyata BNJ.

KESIMPULAN

Media terbaik untuk memacu multiplikasi tunas dari eksplan kecambah adalah MS dengan penambahan BAP 0,3 ppm, demikian pula untuk eksplan tunas *in vitro*. Media yang terbaik untuk perakaran, yaitu pada media MS dengan penambahan IBA 1 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Brossard, N., L. Brissette, D. Lord, and S. Laliberte. 1996.** Elongate, rooting and acclimatization of micropropagated shoots from mature material of hybrid larch. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 44:37-44.
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984.** Plant Propagation by Tissue Culture-Handbook and Directory of Commercial Laboratories. England: Exegetic Ltd. Eversly. Basingstoke.
- Gonzales, H.R., I.H. Sosa, C.A.R. Ferrada, and M.M.R. Amatas. 2003.** Propagatiön *in vitro* de *Artemisia Bassinthium* L. en Cuba. *Rev Cubana Plant Med.* 1:3-5.
- Hobir, D. Sukmadjaja, dan I. Mariska. 1992.** Aplikasi kultur jaringan dalam produksi bibit pada beberapa tanaman industri. Prosiding Komunikasi Ilmiah Penelitian Aplikasi Bioteknologi Kultur Jaringan pada Tanaman Industri. hlm. 51-62.
- Klayman, D.L. 1985.** Quinghaosu (artemisinin): An anti-malarial drug from China. *Sci.* 228:1049-1055.
- Liu, C.Z., S.J. Murch, M. EL-Demerdash, and P.K. Saxena. 2003a.** Regeneration of the Egyptian medicinal plant *Artemisia judaica*. *Plant Cell Rep.* 12(6):525-530.
- Liu, C.Z., C. Guo, Y. Wang, and F. Ouyong. 2003b.** Factors in fluencing *artimisinin* production from shoot cultures of *Artemisia annua* L. *J Microbiol. Biotech.* 19(5):530-535.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962.** *A. ruxsised* medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Pierik, R.L.M. 1987.** *In Vitro* Culture of Higer Plants. Martinus Nijhoff Publisher, London. 344 p.
- Simon, J.E., D. Charles, E. Cebert, L. Grant, J. Janick, and A. Whipkey. 1990.** *Artemisia annua* L.: Promising aromatic and medicinal. *In* Janick, J. and J.E. Simon (Eds.). *Advances in New Crops.* Timber press, Portland, OR. p. 522-526.
-