

**KAJIAN KONSENTRASI BAP DAN NAA TERHADAP
MULTIPLIKASI TANAMAN *Artemisia annua* L. SECARA *IN VITRO***

**Skripsi
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh derajat Sarjana Pertanian
di Fakultas Pertanian
Universitas Sebelas Maret**

Jurusan/Program Studi Agronomi



**Oleh :
Hikmah Fitriani
H0104021**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2008**

**KAJIAN KONSENTRASI BAP DAN NAA TERHADAP
MULTIPLIKASI TANAMAN *Artemisia annua* L. SECARA *IN VITRO***

yang dipersiapkan dan disusun oleh

**Hikmah Fitriani
H0104021**

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal : 25 Agustus 2008
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Ketua

Anggota I

Anggota II

Dr. Samanhuri, SP, MSi
NIP. 132 130 466

Ir. Praswanto, MS
NIP. 130 814 793

Salim Widono, SP, MP
NIP. 132 126 295

Surakarta, September 2008
Mengetahui
Universitas Sebelas Maret
Fakultas Pertanian
Dekan

Prof. Dr. Ir. H. Suntoro, MS
NIP. 131 124 609

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “Kajian Konsentrasi BAP dan NAA terhadap Multiplikasi Tanaman *Artemisia annua* L. secara *In Vitro*” ini dengan baik.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan dan penyusunan skripsi ini dapat berjalan baik dan lancar karena adanya pengarahan, bimbingan, dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Ir. H. Suntoro, MS selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Dr. Samanhudi, SP, MSi selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan saran dan sumbangan pemikiran kepada penulis selama pelaksanaan penelitian sampai penulisan skripsi ini.
3. Ir. Praswanto, MS selaku Dosen Pembimbing Pendamping atas masukan dan saran dalam penelitian hingga akhir penulisan skripsi ini.
4. Salim Widono, SP, MP selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan masukan dan saran pada skripsi ini.
5. Ir. Suharto Pr, MP selaku Dosen Pembimbing Akademik atas bimbingan dan masukannya selama kuliah, penelitian, dan skripsi ini.
6. Ir. Retno Bandriyati Arni Putri, MS dan Dr. Ir. Endang Yuniastuti, MSi atas masukan dan sarannya selama penelitian hingga akhir penulisan skripsi ini.
7. Awal P. Kusuma Dewi SSi, Apt selaku Kasie Pelayanan Teknis B2P2TO2T, Tawangmangu atas masukannya dalam penelitian tanaman obat, khususnya tanaman *Artemisia annua* L.
8. Sujarto selaku Teknisi Litkayasa Pelaksana Lanjutan B2P2TO2T, Tawangmangu atas bantuannya dalam pengadaan bibit *Artemisia annua* L.
9. Joko Prihanto, Amd selaku laboran Kultur Jaringan Tanaman atas bantuan dan masukannya selama penelitian berlangsung hingga akhir penulisan skripsi ini.

10. Keluargaku tersayang : Abah, Ibu, mbak Rima dan Dek Anil yang selalu mendukung dan mendoakanku.
11. Teman-teman seperjuanganku di Laboratorium Kultur Jaringan : Nisa, Faizal, Edi, Dwi, Iwi, Budi, Wulan, Rika, Iin, Okta, Mas Adi, Mas Eka, Nuke atas pemberian motivasi dan bantuannya selama penelitian berlangsung hingga penulisan skripsi ini.
12. Teman-teman Agronomi 2004 yang telah memberikan bantuan, dukungan, dan motivasinya selama ini.
13. Teman-teman kos Wisma Almamater atas pemberian motivasi dan bantuannya mulai awal penelitian hingga akhir penulisan skripsi ini.
14. Semua pihak yang telah membantu demi kelancaran penelitian dan penulisan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya.

Surakarta, September 2008
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
RINGKASAN	x
SUMMARY	xi
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Hipotesis	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tanaman <i>Artemisia annua</i> L.	4
B. Kultur Jaringan	6
C. Zat Pengatur Tumbuh	8
III. METODE PENELITIAN	11
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	11
B. Bahan dan Alat Penelitian	11
C. Rancangan Penelitian.....	11
D. Pelaksanaan Penelitian.....	12
E. Peubah yang diamati.....	14
F. Analisis Data.....	16
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	17
A. Saat Muncul Tunas	17
B. Jumlah Tunas	19
C. Warna Tunas	21

D. Jumlah Daun	22
E. Saat Muncul Kalus	25
F. Tekstur Kalus	26
G. Saat Muncul Akar	27
H. Jumlah Akar	29
I. Berat Segar Total	30
V. KESIMPULAN DAN SARAN	32
A. Kesimpulan	32
B. Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	36



DAFTAR TABEL

Nomor	Judul	Halaman
1.	Pengaruh penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap warna tunas eksplan <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	22
2.	Pengaruh penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap saat muncul kalus eksplan <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	25
3.	Pengaruh penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap tekstur kalus eksplan <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	27
4.	Pengaruh penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap saat muncul akar eksplan <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	28
5.	Pengaruh penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap jumlah akar eksplan <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	29

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
1.	Pengaruh penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap saat muncul tunas eksplan <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	17
2.	Tunas adventif yang terbentuk setelah penambahan BAP 1 ppm dan NAA 0,5 ppm pada kultur <i>in vitro</i> <i>A. annua</i>	19
3.	Pengaruh konsentrasi BAP terhadap saat muncul tunas eksplan <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	20
4.	Pengaruh penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap jumlah daun eksplan <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	23
5.	Terbentuknya daun roset setelah penambahan BAP tanpa NAA pada kultur <i>in vitro</i> <i>A. annua</i>	24
6.	Tunas dan daun yang mengalami vitrifikasi pada kultur <i>in vitro</i> <i>A. annua</i>	24
7.	Akar yang terbentuk setelah penambahan BAP 0 ppm dan NAA 0,5 ppm pada kultur <i>in vitro</i> <i>A. annua</i>	30
8.	Pengaruh penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap berat segar total eksplan <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	31

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul	Halaman
1.	Hasil pengamatan saat muncul tunas <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	37
2.	Hasil pengamatan jumlah tunas <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	37
3.	Hasil pengamatan warna tunas <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	38
4.	Hasil pengamatan jumlah daun <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	38
5.	Hasil pengamatan saat muncul kalus <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	39
6.	Hasil pengamatan tekstur kalus <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	39
7.	Hasil pengamatan saat muncul akar <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	40
8.	Hasil pengamatan jumlah akar <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	40
9.	Hasil pengamatan berat segar total <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	41
10.	Analisis ragam uji F 5% saat muncul tunas <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	42
11.	Analisis ragam uji F 5% jumlah tunas <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	42
12.	Analisis ragam uji F 5% berat segar total <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i> (sebelum transformasi)	42
13.	Analisis ragam uji F 5% berat segar total <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i> (setelah transformasi).....	43
14.	Pengaruh BAP terhadap rerata jumlah tunas <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	43
15.	Hasil perhitungan analisis regresi untuk jumlah tunas <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i>	43
16.	Cara menentukan konsentrasi BAP dan NAA	44
17.	Komposisi garam-garam anorganik pada medium MS	45
18.	Gambar- gambar penelitian <i>A. annua</i> secara <i>in vitro</i> pada 31 HST	46
19.	Skoring warna tunas.....	49
20.	Foto <i>A. annua</i> sebagai tanaman obat	50

KAJIAN KONSENTRASI BAP DAN NAA TERHADAP MULTIPLIKASI TANAMAN *Artemisia annua* L. SECARA *IN VITRO*

Hikmah Fitriani
H0104021

RINGKASAN

Artemisia annua L. mengandung bahan aktif utama artemisinin, dapat digunakan sebagai obat anti malaria pengganti quinine yang berasal dari tanaman kina dan obat sintesis klorokuin. Pengadaan bibit dengan teknik kultur jaringan menggunakan modifikasi zat pengatur tumbuh diharapkan dapat menghasilkan bibit tanaman *A. annua* yang seragam, dalam jumlah banyak, waktu yang singkat serta unggul secara genetik sehingga permasalahan pada budidaya secara generatif dapat diatasi.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi BAP dan NAA yang dapat meningkatkan multiplikasi tanaman *A. annua* secara *in vitro*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta pada bulan Desember 2007 sampai dengan Mei 2008. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang disusun secara faktorial. Faktor pertama adalah konsentrasi BAP yang terdiri dari empat taraf yaitu 0 ppm; 1 ppm; 2 ppm dan 3 ppm. Faktor kedua adalah konsentrasi NAA yang terdiri dari empat taraf yaitu 0 ppm; 0,25 ppm; 0,5 ppm; dan 1 ppm NAA sehingga terdapat 16 kombinasi perlakuan yang masing-masing diulang 3 kali. Data yang diperoleh pada variabel saat muncul tunas dan jumlah tunas dianalisis ragam berdasarkan uji F 5%, data pada variabel berat segar total dianalisis ragam berdasarkan uji F 10%, apabila terdapat pengaruh yang nyata pada perlakuan dilanjutkan DMRT 5% dan uji regresi. Data pada variabel warna tunas, saat muncul kalus, tekstur kalus, saat muncul akar, jumlah akar, serta jumlah daun dianalisis deskriptif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa media dengan penambahan 1 ppm BAP paling optimal untuk multiplikasi tanaman *Artemisia annua* L. secara *in vitro*. Media tanpa zat pengatur tumbuh paling cepat memunculkan tunas (7,67 HST). Rata-rata warna tunas pada semua kombinasi perlakuan adalah hijau muda. Kombinasi perlakuan 1 ppm BAP dan 0,25 ppm NAA menghasilkan jumlah daun terbanyak (13 daun) dan berat segar total terbesar (0,79 g). Kombinasi perlakuan 1 ppm BAP dan 1 ppm NAA paling cepat memunculkan kalus (9 HST). Semua kalus yang dihasilkan bertekstur remah. Perlakuan 1 ppm NAA tanpa BAP menghasilkan saat muncul akar tercepat (15 HST) dan jumlah akar terbanyak (32 akar).

THE STUDY OF BAP AND NAA CONCENTRATION FOR *Artemisia annua* L. IN VITRO MULTIPLICATION

HIKMAH FITRIANI
H0104021

SUMMARY

Artemisia annua L. consist of major active ingredient artemisinin, used as anti malarial drug substitute quinine from kina and klorokuin sintetic drugs. Seedling producing by technique of tissue culture using modification of plant growth regulator determined able to produce similar *A. annua* seed plant in great number, less in time and also excellent seed genetically, so that all of problems in generative cultivations can be solved.

The aims of this research were to knowing BAP and NAA concentrations could increase *in vitro* *A. annua* multiplication. This research was conducted in Laboratory of Plant Physiology and Biotechnology, Agriculture Faculty Sebelas Maret University, Surakarta from December 2007 until Mei 2008. This research used factorial treatment in completely Randomized Design with two factors. The first one was concentration of BAP consisted of four treatments, 0 ppm; 1 ppm; 2 ppm; 3 ppm. The second was concentration of NAA consisted of four treatments, 0 ppm; 0,25 ppm; 0,5 ppm; 1 ppm. There are 16 treatment combinations with three replications. The data resulted of shoot formation period and shoot number were analyzed based on F-test 5%, the data of total wet weight was analyzed based on F-test 10%. If there were significant, its go to the Duncan Multiple Range Test 5% and also regretion test. The data of shoot colour variable, callus formation period, callus texture, root formation periode, root number and leaf number were descriptive analysis.

The results of this research showed that medium with 1 ppm BAP were the most optimum for *A. annua in vitro* multiplication. Medium without plant growths regulator were the most fast for shoot formation periode. Shoot colour all of treatment combinations were light green. The treatment combination of 1 ppm BAP and 0,25 ppm NAA result the most leaf number (3 leaves) and the most of total wet weight (0,79 g). The treatment combination of 1 ppm BAP and 1 ppm NAA result the most fast for callus formation periode. All of them were friable. The treatment of 0,5 ppm NAA without BAP resulted the most fast root formation periode (15 HST) and the most root number (32 roots).

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit malaria yang disebabkan oleh *Plasmodium falciparum* ditularkan oleh nyamuk *Anopheles* betina merupakan penyakit yang sangat ganas di Indonesia dan negara lainnya khususnya di Asia dan Afrika (Kardinan, 2006). Obat anti malaria yang pertama kali ditemukan pada tahun 1820 adalah quinine yang berasal dari tanaman kina (Rubiaceae) dan obat sintesis klorokuin (1940) (Namdeo *et al.*, 2006). Namun untuk saat ini, telah terjadi resistensi (kekebalan) *Plasmodium* terhadap beberapa jenis obat malaria termasuk quinine dan klorokuin. Oleh karena itu, WHO mengeluarkan rekomendasi penggunaan tanaman *Artemisia annua* L. untuk pengobatan penyakit malaria (Kardinan, 2006).

A. annua adalah tumbuhan obat berupa perdu berasal dari Cina. Di Cina tumbuhan ini disebut *qinghao*. Di Amerika Serikat tumbuhan ini dikenal dengan nama *sweet annie* atau *wormwood* (Suryadi, 2005) sedangkan di Jawa dan Irian Jaya biasa disebut dengan *Anuma* (Anonim, 2007a). Bahan aktif tumbuhan ini disebut *qinghausu* dalam bahasa Cina atau artemisinin (istilah ilmiahnya), pertama kali diekstrak tahun 1971. Tahun 1972 para ahli farmasi Cina berhasil mengisolasi dan menentukan struktur molekul kimia senyawa *sesquiterpene lactone*. Cina mempatenkan pengetahuannya itu (Suryadi, 2005).

Seperti yang telah diketahui bahwa tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat berbagai penyakit. Dalam hal ini, kaitannya dengan tanaman *A. annua* yang mengandung artemisinin untuk pengobatan penyakit malaria. Supriyati *et al.* (2006) menyatakan bahwa artemisinin dapat diproduksi dengan cara sintesa tetapi memerlukan biaya yang besar dan sulit dilakukan sehingga bahan baku utama untuk artemisinin tetap bersumber dari tanaman. Kebutuhan simplisia *A. annua* mempunyai prospek yang tinggi tetapi saat ini belum dibudidayakan secara intensif (Anonim, 2004 *cit* Kusumodewi, 2005).

Untuk memenuhi kebutuhan simplisianya diduga diperoleh dari tanaman yang tidak jelas budidayanya yang mengakibatkan kualitas beragam serta terkurasnya populasi di habitatnya (Sudiatso, 2000 *cit* Kusumodewi, 2005). Oleh karena itu, perlu dilakukan teknik budidaya yang tepat agar sumber daya hayati ini tidak musnah dan tingkat produksinya tetap optimal.

Secara generatif, tanaman *A. annua* dapat dikembangbiakkan dengan bijinya. Masalah yang dihadapi pada budidaya tanaman ini adalah bahwa biji *A. annua* mempunyai viabilitas yang sangat rendah dan tidak mempunyai masa dormansi. Variasi bibit yang dihasilkan dengan biji juga sangat mempengaruhi kandungan zat bioaktif yang dihasilkannya. Teknik kultur jaringan diharapkan dapat mengatasi kendala yang disebabkan oleh budidaya generatif dengan cara menyediakan bibit yang mempunyai kualitas seragam, mudah dalam perbanyakannya (Ermayanti *et al.*, 2002) serta unggul secara genetis (Kusumodewi, 2005). Menurut Radji (2005), regenerasi tanaman obat dengan teknik kultur jaringan terbukti menghasilkan bahan kimia yang sama dengan tanaman induknya.

Modifikasi media kultur jaringan dengan menambah zat pengatur tumbuh perlu dilakukan untuk menaikkan prosentase keberhasilannya. Ada dua jenis hormon tanaman (auksin dan sitokinin) yang banyak dipakai dalam propagasi secara *in vitro* (Wetherel, 1982). Golongan auksin yang ditambahkan dalam media pada penelitian ini adalah *Naphtalene Acetic Acid* (NAA) sedangkan golongan sitokininnya adalah *Benzyl Amino Purine* (BAP). Auksin dapat merangsang pembentukan akar sedangkan sitokinin berperan sebagai perangsang pembelahan sel dalam jaringan yang dibuat eksplan serta merangsang pertumbuhan tunas daun (Wetherel, 1982). Dengan penambahan BAP dan NAA pada konsentrasi yang tepat diharapkan dapat meningkatkan multiplikasi tanaman *A. annua* secara *in vitro*.

B. Perumusan Masalah

Peningkatan kebutuhan artemisinin akan berdampak pada kebutuhan tanaman *A. annua* yang semakin meningkat pula. Penyediaan bibit yang seragam, dalam jumlah banyak, serta terjaga kualitasnya sangat diperlukan

untuk mendukung pengembangan tanaman *A. annua*. Dengan pemanfaatan teknik kultur jaringan diharapkan dapat diperoleh bibit tanaman *A. annua* yang seragam, dalam jumlah banyak, dalam waktu yang singkat serta unggul secara genetis.

Untuk menunjang keberhasilan teknik kultur jaringan *A. annua*, telah dilakukan beberapa penelitian mengenai penggunaan berbagai media dan penambahan zat pengatur tumbuh pada media kultur. Salah satu di antaranya adalah yang dilakukan oleh Ermayanti *et al.* (2002) pada *A. cina* dan *A. annua* menggunakan media MS padat dan cair tanpa atau dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP, kinetin, IAA dan NAA untuk menginduksi tunas dari kalus maupun dari potongan batang (internodus). Pada penelitian ini, akan dikaji lebih dalam mengenai pengaruh pemberian BAP dan NAA pada berbagai konsentrasi yang dapat menghasilkan tunas terbanyak untuk multiplikasi tanaman *A. annua* secara *in vitro*. Rout Gr *et al.* (1999) dan Tsay HS *et al.* (1989) cit Radji (2005) menyatakan bahwa penambahan senyawa auksin dan sitokinin dalam media perbenihan kultur jaringan mampu mempercepat multiplikasi sel jaringan beberapa tumbuhan obat.

Berdasarkan uraian tersebut, maka dalam penelitian ini dapat dirumuskan beberapa masalah yaitu:

1. Berapakah konsentrasi BAP yang dapat meningkatkan multiplikasi tanaman *A. annua* secara *in vitro*?
2. Berapakah konsentrasi NAA yang dapat meningkatkan multiplikasi tanaman *A. annua* secara *in vitro*?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi BAP dan NAA yang dapat meningkatkan multiplikasi tanaman *A. annua* secara *in vitro*.

D. Hipotesis

Diduga bahwa dengan pemberian BAP dan NAA pada konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan multiplikasi tanaman *A. annua* secara *in vitro*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman *Artemisia annua* L.

Klasifikasi tanaman *A. annua* menurut Sugiarto (1996) adalah :

Divisio : Spermatophyta
Sub divisio : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Asterales
Famili : Asteraceae
Genus : Artemisia
Spesies : *Artemisia annua* L.

Sebutan botaninya adalah *A. annua*, termasuk suku Asteraceae. Orang Jawa dan Papua sama-sama menyebutnya anuma. Hidupnya di hutan-hutan atau kadang-kadang tumbuh liar di pingir-pinggir jalan. Belakangan, tanaman anuma dijadikan tanaman hias di dalam pot karena tampilannya memang cukup eksotik. Daunnya berbentuk oval, lonjong, panjang sekitar 10-18 cm dan lebar 5-15 cm. Ujung runcing, pangkal tumpul, tepi beringgir, daun warna hijau atau ada pula ungu kehijauan. Batangnya tegak, bulat persegi, dan berwarna hijau kecoklatan (Anonim, 2007a).

A. annua dengan kandungan utamanya artemisinin merupakan tanaman subtropis yang berasal dari daerah Cina dan tersebar ke Vietnam dan Malaysia. Artemisia merupakan salah satu alternatif obat malaria yang telah digunakan di berbagai negara di dunia, terutama Afrika dan Asia. Hasil penelitian tahun 1972 di China telah menemukan bahwa Artemisia mengandung bahan aktif utama, yaitu artemisinin, dan bahan lainnya di antaranya artesunate dan artemether yang sangat efektif terhadap *Plasmodium falciparum*, yaitu penyebab penyakit malaria (Kardinan, 2006).

Daun Artemisia mengandung sekitar 89% dari total artemisinin yang terkandung pada tanaman yang tersebar di 1/3 daun bagian atas (41,7%), 1/3 bagian tengah (25%), dan 1/3 bagian bawah (22,2%). Pendapat lainnya

mengatakan bahwa pada bunganya kandungan artemisinin cukup tinggi, bahkan dapat disetarakan dengan daun. Minyak atsirinya (essential oil) tersebar di 1/3 daun bagian atas (36%), 1/3 daun bagian tengah (47%) dan 1/3 daun bagian bawah (17%) (Kardinan, 2006).

Tanaman *A. annua* mampu menghasilkan artemisinin dalam jumlah maksimum ketika berada dalam masa sesaat sebelum berbunga. Untuk menentukan masa sesaat sebelum berbunga, umur tanaman tidak dapat digunakan sebagai standar. Waktu pencahayaan mempengaruhi saat berbunga tanaman *A. annua*. Tanaman yang ditanam di daerah yang mempunyai waktu pencahayaan lebih panjang akan memiliki masa vegetatif yang lebih lama sehingga waktu panennya juga akan lebih terlambat. Sementara, tanaman *A. annua* yang dibudidayakan di daerah yang mempunyai waktu pencahayaan pendek akan berbunga lebih cepat. Berbeda dengan di daerah subtropis, waktu pencahayaan selama 12 jam di Tawangmangu terbukti menyebabkan tanaman *A. annua* berbunga dan siap panen pada umur empat bulan (Kusumodewi, 2005).

Akibat intensitas cahaya tinggi dan waktu penyinaran yang pendek, menyebabkan tanaman *Artemisia* mempercepat proses generatif sehingga cepat berbunga. Namun, tidak menutup kemungkinan untuk pengembangan klon-klon seperti ini. Hal tersebut merupakan permasalahan dan sekaligus juga keuntungan dalam mengembangkan *Artemisia* dibandingkan daerah subtropis. Kondisi tersebut memungkinkan penanaman *Artemisia* dapat dilakukan beberapa kali dalam satu tahun, kapan saja dapat ditanam, asalkan ketersediaan air terpenuhi untuk pertumbuhan awal. Hal lain yang dapat dilakukan untuk mengatasi klon yang cepat berbunga adalah dengan optimalisasi lahan hingga jumlah populasi optimal. Dengan demikian dapat dihasilkan produksi total herba maupun artemisinin per tahun cukup tinggi (Gusmani dan Nurhayati, 2007).

A. annua disebut juga *Sweet Wormwood*, *Sweet Annie* atau *Chinese wormwood* (dalam bahasa Cina: *pinyin: qinghao*). Biasanya tipe *wormwood* dapat tumbuh di seluruh dunia. Tanaman ini memiliki daun seperti pakis,

bunga berwarna kuning cerah, dan bau seperti kamper. Tingginya rata-rata 2 m. Penyerbukannya adalah penyerbukan silang dengan angin atau serangga. Termasuk organisme diploid dengan jumlah kromosom $2n=36$ (Anonim, 2007b).

Dalam upaya pengembangan Artemisia di Indonesia, pemilihan lokasi yang cocok untuk pertumbuhan tanaman Artemisia sangat penting dilakukan untuk memenuhi syarat tumbuhnya. Indonesia yang terletak antara 6° LU – 11° LS masih memungkinkan untuk pembudidayaan Artemisia. Kisaran lingkungan tumbuh Artemisia cukup panjang antara 40° LU hingga 42° LS (Gusmani dan Nurhayati, 2007).

B. Kultur Jaringan

Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan, dan organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali (Gunawan, 1987). Menurut Wetter dan Constabel (1991) bahwa kultur jaringan tanaman terdiri dari sejumlah teknik untuk menumbuhkan organ, jaringan dan sel tanaman. Jaringan dapat dikulturkan pada agar padat atau dalam medium hara cair. Jika ditanam dalam agar, jaringan akan membentuk kalus, yaitu massa sel atau sel-sel yang tidak tertata. Kultur agar juga merupakan teknik untuk meristem dan juga untuk mempelajari organogenesis. Teknologi kultur jaringan tumbuhan dimungkinkan untuk membantu memproduksi bibit *A. annua* klon unggul secara genetik yang mampu mempunyai kadar artemisinin yang tinggi dalam jumlah besar dan seragam (Kusumodewi, 2005).

Untuk mengembangkan tanaman secara *in vitro* sampai menjadi plantlet dan akhirnya menjadi tanaman lengkap yang siap dipindah ke medium tanah, maka terdapat beberapa tahapan utama yang harus dilakukan, yaitu: (1) pemilihan sumber tanaman yang akan digunakan sebagai bahan awal (jaringan meristem, eksplan, dan lain-lain), (2) penanaman dalam medium yang sesuai sampai terjadi perbanyakan (misalnya dalam bentuk kalus), (3) pembentukan

tunas dan akar sampai terbentuk plantlet, (4) aklimatisasi, yaitu proses adaptasi di luar sistem *in vitro*, (5) penanaman pada medium biasa (tanah atau media bukan artifisial lainnya) (Yuwono, 2006).

Perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan dapat dilakukan melalui perbanyakan tunas-tunas baru dari tunas aksilar. Tunas aksilar yang digunakan adalah nodus tunggalnya sehingga kemudian dikenal sebagai mikrostek. Pada teknik ini hal yang terpenting yang menjadi orientasi adalah merangsang pertumbuhan tunas, subkultur mikrostek untuk menghasilkan tunas baru demikian seterusnya kemudian dilakukan pengakaran (Santoso dan Nursandi, 2004). Pada kultur jaringan tanaman *A. annua*, media MS padat lebih sesuai untuk perbanyakan tunas dibandingkan dengan media MS cair. Pada media MS cair tunas mengalami vitrifikasi sedangkan pada media MS padat pembentukan tunas majemuk lebih tinggi dibandingkan dengan media MS cair (Ermayanti *et al.*, 2002).

Formulasi dasar dari garam mineral buatan Murashige dan Skoog merupakan media kultur yang khas dan biasa digunakan dalam propagasi tanaman secara *in vitro*. Nutrisi mineral dapat dibagi dalam tiga kelas: garam mineral nutrisi makro, garam mineral nutrisi mikro dan sumber besi. Garam-garam nutrisi makro dibutuhkan dalam jumlah relatif besar dan jumlah yang dibutuhkan untuk membuat 1 liter media cukup besar sehingga dapat ditimbang dengan cukup teliti dengan menggunakan alat timbangan miligram (Wetherel, 1982).

Secara umum terdapat empat sumber yang digunakan dalam perbanyakan mikro (*micropropagation*) untuk menghasilkan plantlet, yaitu (1) meristem, (2) apex, (3) nodus (*node*) dan (4) bermacam-macam eksplan. Meristem, apex dan nodus dapat dikulturkan menjadi tunas. Tunas yang dihasilkan selanjutnya dapat digunakan sebagai sumber untuk menghasilkan tunas-tunas baru dengan menggunakan percabangan axilari. Tunas-tunas tersebut kemudian dapat dikembangkan lebih lanjut sehingga terbentuk perakaran dan akhirnya menjadi plantlet (Yuwono, 2006).

Supriyati *et al.* (2006) melaporkan bahwa media MS menghasilkan berat segar dan berat kering tertinggi tetapi pengaruhnya terhadap berat segar kultur pucuk *A. annua* tidak berbeda nyata terhadap media Gamborg. Kandungan artemisinin tertinggi terdapat pada media MS namun tidak berbeda nyata dengan media Gamborg dan Whyte.

C. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh sangat diperlukan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan dan diferensiasi. Tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dalam medium, pertumbuhan sangat terhambat bahkan mungkin tidak tumbuh sama sekali. Pembentukan kalus dan organ-organ ditentukan oleh penggunaan yang tepat dari zat pengatur tumbuh (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Dalam aktivitas kultur jaringan, auksin sangat dikenal sebagai hormon yang mampu berperan menginduksi kalus, menghambat kerja sitokinin dalam membentuk klorofil dalam kalus, mendorong proses morfogenesis kalus membentuk akar atau tunas, mendorong proses embriogenesis, dan auksin juga dapat mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman (Santoso dan Nursandi, 2004).

Untuk tahap multiplikasi sebagai patokan bagi perbandingan hormon digunakan rasio yang tinggi dari sitokinin dan auksin. Ini diperoleh dengan menggunakan auksin yang tidak stabil, misalnya IAA atau auksin yang lebih kuat dengan kadar rendah, misalnya NAA; 2,4-D jarang digunakan kecuali kita menghendaki terjadinya kalus. Sebagai sitokinin biasanya dipilih BA atau 2ip. Variasi kadarnya sangat berbeda-beda tetapi biasanya berkadar relatif tinggi dan bahkan seringkali terlalu tinggi sehingga dapat mempengaruhi pembentukan akar (Wetherel, 1982).

Sitokinin terutama berpengaruh pada pembelahan sel. Bersama-sama dengan auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap diferensiasi jaringan. Pada pemberian auksin dengan kadar yang relatif tinggi, diferensiasi kalus cenderung ke arah pembentukan primordia akar sedangkan pada pemberian sitokinin dengan kadar yang relatif tinggi, diferensiasi kalus akan cenderung ke arah pembentukan primordia batang atau tunas (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Organogenesis merujuk kepada proses yang menginduksi pembentukan jaringan, sel atau kalus menjadi tunas dan tanaman sempurna. Proses ini diawali oleh hormon pertumbuhan. Benziladenin dan sitokinin lainnya, baik sendiri maupun dalam kombinasi dengan asam naftalen asetat atau asam indol asetat kadang-kadang dengan asam giberelat menyebabkan diferensiasi dan pembentukan tunas. Pembentukan akar dapat terjadi serentak atau dapat diinduksi sesudahnya (Wetter dan Constabel, 1991).

Auksin digunakan pada mikropropagasi dan ditambahkan ke dalam nutrisi media untuk mendukung pertumbuhan kalus, suspensi sel atau organ (seperti meristem, tunas atau ujung akar) dan untuk mengatur morfogenesis terutama jika digabungkan dengan sitokinin (George dan Sherrington, 1984).

Penambahan NAA pada media MS dapat mempercepat tumbuhnya tunas dan akar pada eksplan sedangkan penambahan NAA 0,9 ppm pada media MS dapat meningkatkan berat basah kalus asparagus dengan cepat. Kombinasi jenis sitokinin dan NAA yang terbaik untuk merangsang pertumbuhan dan perkembangan eksplan asparagus ialah 0,3 ppm kinetin dan 0,9 ppm NAA (Simatupang, 1996).

Perlakuan konsentrasi BAP menghasilkan perbedaan kuantitas kalus pada kapas. BAP dengan konsentrasi 2 mg/l menghasilkan kuantitas kalus kapas terbesar yaitu 3,49 kali ukuran eksplan. Perlakuan konsentrasi BAP tidak menunjukkan perbedaan kualitas kalus. Pemberian BAP dengan konsentrasi 0, 1, 2, 3 mg/l air pada umur 50 hari setelah inokulasi tidak menyebabkan perubahan kalus yaitu menghasilkan kalus yang kompak (Sudarmadji, 2003).

Untuk mendapatkan multiplikasi tunas sambung nyawa (*Gynura procumbens*) yang termasuk suku Asteraceae cukup dengan mengaplikasikan media MS tanpa zat pengatur tumbuh yang menghasilkan jumlah tunas rata-rata 5,4 setelah masa kultur 2 bulan sedangkan media perakaran terbaik adalah MS + IAA 0,1 mg/l dengan panjang akar 9,3 dan jumlah daun 12 (Kristina *et al.*, 2005).

Zia *et al.* (2007) melaporkan bahwa pada media dengan penambahan BAP yang dikombinasikan dengan NAA, 2,4-D atau IBA menghasilkan respon pembentukan kalus pada *Artemisia absinthium* L. sebesar 100%. Kombinasi 0,5 mg/l BAP dan 0,05–0,25 mg/l NAA dapat memproduksi kalus yang hijau, lembut dan *friable* dari eksplan daun dan batang.

Ermayanti *et al.* (2002) melaporkan bahwa media MS cair yang mengandung 0,5–1 mg/l BAP lebih sesuai untuk mikropropagasi tunas *Artemisia cina* dibandingkan dengan media padat. Meningkatnya konsentrasi BAP yang ditambahkan pada media menurunkan kandungan klorofil pada daun plantlet. Pada media padat tidak terbentuk tunas majemuk. Umur fisiologi eksplan yang berbeda tidak mempengaruhi jumlah tunas majemuk yang dihasilkan. Morfologi daun *A. cina* bervariasi tergantung pada konsentrasi zat pengatur tumbuh dan kondisi kultur, namun variasi morfologi ini bersifat tidak permanen.

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2007 sampai Mei 2008 bertempat di Laboratorium Fisiologi dan Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

B. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan penelitian

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah nodus tunggal dari batang tanaman *Artemisia annua* L. Bahan kimia yang digunakan meliputi media dasar MS, BAP, NAA, Tween 20, aquades, larutan deterjen, agrept (bakterisida), baycline, dithane (fungisida), spiritus, dan alumunium foil, NaOH 1 N, HCL 1 N, alkohol 96%.

2. Alat penelitian

Alat yang digunakan adalah botol kultur, LAF (*Laminar Air Flow*), autoklaf, petridish, erlenmeyer, pH meter, timbangan analitik, pipet ukur, *magnetic stirrer*, skalpel, sprayer, pisau, lampu bunsen, pinset, kertas label, alumunium foil, beker glass, gelas ukur, karet gelang, tissue, plastik PP 0,4 mm, dan rak kultur.

C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial dengan dua faktor perlakuan yaitu konsentrasi BAP (0 ppm; 1 ppm; 2 ppm; 3 ppm) dan konsentrasi NAA (0 ppm; 0,25 ppm; 0,5 ppm; 1 ppm). Dengan demikian, didapatkan 16 kombinasi perlakuan yaitu:

1. B0N0 = 0 ppm BAP + 0 ppm NAA
2. B0N1 = 0 ppm BAP + 0,25 ppm NAA
3. B0N2 = 0 ppm BAP + 0,5 ppm NAA
4. B0N3 = 0 ppm BAP + 1 ppm NAA
5. B1N0 = 1 ppm BAP + 0 ppm NAA
6. B1N1 = 1 ppm BAP + 0,25 ppm NAA

7. B1N2 = 1 ppm BAP + 0,5 ppm NAA
8. B1N3 = 1 ppm BAP + 1 ppm NAA
9. B2N0 = 2 ppm BAP + 0 ppm NAA
10. B2N1 = 2 ppm BAP + 0,25 ppm NAA
11. B2N2 = 2 ppm BAP + 0,5 ppm NAA
12. B2N3 = 2 ppm BAP + 1 ppm NAA
13. B3N0 = 3 ppm BAP + 0 ppm NAA
14. B3N1 = 3 ppm BAP + 0,25 ppm NAA
15. B3N2 = 3 ppm BAP + 0,5 ppm NAA
16. B3N3 = 3 ppm BAP + 1 ppm NAA

Setiap kombinasi perlakuan dilakukan ulangan sebanyak 3 kali.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Pengecambahan Biji *A. annua*

Biji tanaman *A. annua* dikecambahkan dalam polibag dengan media berupa campuran tanah dan pupuk kandang (1:1) kemudian dipelihara selama 4 bulan.

2. Sterilisasi botol dan alat

Alat yang harus disterilkan diantaranya adalah petridish, skalpel, pinset dan alat-alat yang akan dimasukkan ke dalam LAF disterilisasi dengan autoklaf. Terlebih dahulu alat-alat tersebut dicuci, dan dikeringkan. Setelah kering, alat-alat tersebut dibungkus dengan kertas, kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf, autoklaf dihidupkan hingga suhu 121°C dengan tekanan $1,5 \text{ kg/cm}^3$ selama 30 menit.

3. Pembuatan larutan stok

Menimbang bahan-bahan larutan stok (sesuai komposisi dalam media MS). Garam-garam makro dan Fe-EDTA ditimbang untuk pembuatan 10 liter media sehingga setiap penimbangan bahan dikalikan 10. Kemudian bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan aquades sampai 500 ml. Penimbangan bahan vitamin dikalikan 10 kemudian dilarutkan dalam akuades sampai 125 ml. Penimbangan garam-garam mikro dikalikan 100 kemudian dilarutkan dalam akuadest sampai 500 ml. Masing-masing

bahan tersebut diaduk hingga homogen dengan *magnetic stirrer*, baru kemudian dimasukkan ke dalam botol dan disimpan ke dalam *refrigerator*. Pembuatan larutan stok BAP dan NAA dilakukan dengan cara menimbang bahan sebanyak 10 mg kemudian ditetesi NaOH sebagai pelarut dan diencerkan dengan akuades sampai 100 ml.

4. Penyiapan media

Media yang digunakan terdiri dari garam dan vitamin untuk media MS. Kedua bahan tersebut telah dipersiapkan sebagai stok. Bahan-bahan tersebut dicampur dengan menambahkan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA sesuai perlakuan kemudian diencerkan dengan air hasil destilasi (aquades) sampai campuran bahan-bahan mencapai 500 ml. Kemudian ditambahkan gula sebanyak 15 g. Agar campuran tersebut merata, maka larutan campuran diletakkan pada beker glass yang sebelumnya diletakkan di atas alat penggerak berputar (*stirrer*) yang juga berfungsi sebagai pemanas (*hot plate*). Agar campuran media larut, maka di dalam beker glass tersebut diberi penggerak magnetik (*magnetic stirrer*). Langkah selanjutnya yaitu pengukuran pH larutan. pH larutan disesuaikan menjadi 5,7-5,8 yaitu dengan penambahan NaOH 1 N untuk menaikkan pH atau HCl 1 N untuk menurunkan pH. Apabila pH telah sesuai, maka pada larutan ditambahkan bahan pematat media, yaitu agar-agar sebanyak 4 g dan ditunggu sampai mendidih. Setelah mendidih, larutan selanjutnya dituangkan ke botol-botol kultur, kurang lebih 25 ml setiap botolnya. Botol ditutup dengan plastik PP, kemudian dapat dilakukan sterilisasi dengan cara autoklafing pada suhu 121°C, pada tekanan 1,5 kg/cm³ selama 30 menit. Setelah selesai, botol diangkat dari autoklaf, tutup dirapatkan dan didinginkan agar media menjadi padat. Botol-botol kultur berisi media selanjutnya disimpan pada rak-rak kultur.

5. Sterilisasi eksplan

Eksplan nodus tunggal dari batang tanaman *A. annua* dicuci dengan deterjen sampai bersih dan dibilas dengan aquades steril, kemudian direndam dalam campuran larutan Agrept 0,6 g/100 ml dan ditambah

Tween 20 2-3 tetes selama 5 menit kemudian dibilas dengan aquades steril. Langkah selanjutnya eksplan direndam dalam campuran larutan Dithane 0,6 g/100 ml dan ditambah Tween 20 sebanyak 2-3 tetes selama 5 menit, kemudian dibilas dengan aquades steril. Setelah itu, eksplan direndam dalam baycline 10% selama 3 menit. Langkah yang terakhir yaitu eksplan dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali sampai bersih.

6. Penanaman eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di LAF. Sebelum botol ditanami, terlebih dahulu di bagian mulut botol dipanaskan agar kontaminasi terhindarkan. Dengan hati-hati tutup botol selanjutnya dibuka. Untuk menjaga sterilitas dari alat, skalpel dan pinset selalu dipanaskan sebelum digunakan. Plastik penutup botol dibuka, eksplan diambil dengan pinset steril, kemudian eksplan ditanam di atas media. Setelah selesai penanaman, mulut botol dipanaskan kembali. Tutup botol sebaiknya dipanaskan sebelum digunakan untuk menutup. Botol ditutup rapat menggunakan aluminium foil dan plastik PP kemudian diberi label perlakuan dan tanggal penanamannya. Botol yang telah ditanami diinkubasikan pada kondisi terang untuk suhu sekitar 26°C.

7. Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan dengan cara menyemprotkan spiritus ke botol-botol kultur setiap 2 hari sekali.

E. Peubah yang Diamati

1. Saat muncul tunas

Diamati dan dicatat saat munculnya tunas (dinyatakan dalam Hari Setelah Tanam, HST), ditandai dengan adanya tonjolan kehijauan pada permukaan eksplan. Dikatakan tunas jika panjangnya sudah mencapai ± 2 mm.

2. Jumlah tunas

Jumlah tunas dihitung pada saat akhir pengamatan (31 HST) dengan cara menghitung jumlah tunas yang terbentuk.

3. Warna tunas

Warna tunas diamati secara visual pada saat akhir pengamatan (31 HST) dengan skoring:

0 = putih

1 = kuning

2 = hijau muda

3 = hijau

4 = hijau tua

4. Jumlah daun

Jumlah daun dihitung pada saat akhir pengamatan (31 HST) dengan cara menghitung jumlah daun yang terbentuk.

5. Saat muncul kalus

Diamati dan dicatat saat muncul kalus (dinyatakan dalam HST), ditandai dengan munculnya jaringan berwarna kehijauan pada permukaan eksplan.

6. Tekstur kalus

Tekstur kalus diamati pada akhir pengamatan (31 HST), dikelompokkan menjadi *friable* (remah) dan *nonfriable* (kompak).

7. Saat muncul akar

Diamati dan dicatat saat munculnya akar (dinyatakan dalam HST), ditandai dengan adanya tonjolan berwarna putih pada bagian bawah eksplan. Dikatakan akar jika panjangnya sudah mencapai ± 2 mm.

8. Jumlah akar

Jumlah akar yang tumbuh dihitung pada saat akhir pengamatan (31 HST).

9. Berat segar total

Berat segar total dinyatakan dalam gram (g) dan pengukuran berat segar total dilakukan pada akhir pengamatan (31 HST).

F. Analisis data

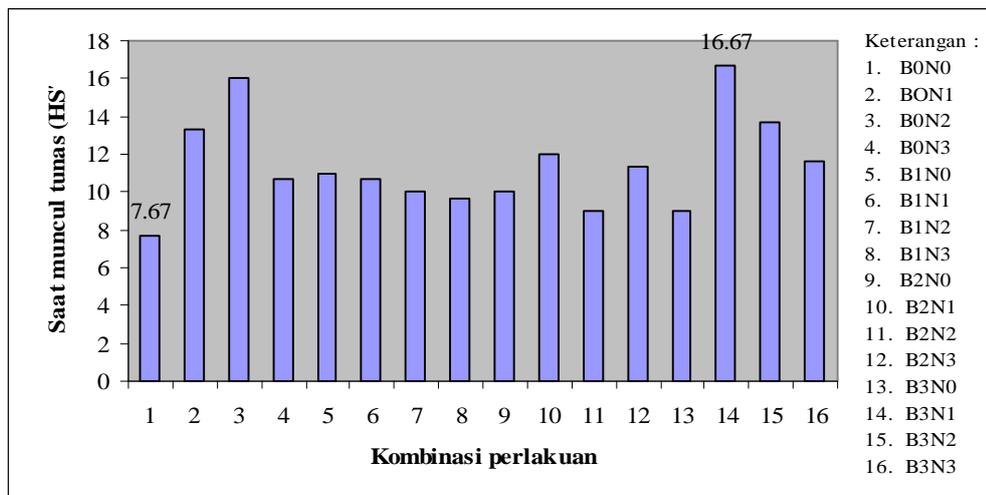
Data pada variabel saat muncul dan jumlah tunas dianalisis ragam dengan uji F pada taraf 5% sedangkan variabel berat segar total (g) dianalisis ragam berdasarkan uji F pada taraf 10%. Jika perlakuan berpengaruh nyata maka dilanjutkan dengan DMRT 5% dan uji regresi. Data pada variabel warna tunas, saat muncul kalus, tekstur kalus, saat muncul akar, jumlah akar serta jumlah daun dianalisis secara deskriptif.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

10. Saat Muncul Tunas

Tunas merupakan ranting muda yang baru tumbuh atau calon tanaman baru yang tumbuh dari bagian tanaman (Rahardja dan Wiryanta, 2003). Saat munculnya tunas ditandai dengan adanya tonjolan berwarna kehijauan pada ketiak daun. Jadi, tunas yang pertama kali muncul pada eksplan merupakan pemanjangan mata tunas yang ada pada ketiak daun.

Hasil analisis sidik ragam (Lampiran 10) menunjukkan bahwa perlakuan BAP dan NAA, serta interaksi antara keduanya memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap rata-rata waktu pembentukan tunas *Artemisia annua* L. secara *in vitro*. Tampak bahwa pemberian BAP dan NAA ke dalam media kultur justru memperlambat saat kemunculan tunas.



Keterangan :
 B0 : 0 ppm BAP B1 : 1 ppm BAP B2 : 2 ppm BAP B3 : 3 ppm BAP
 N0 : 0 ppm NAA N1 : 0,25 ppm NAA N2 : 0,5 ppm NAA N3 : 1 ppm NAA

Gambar 1. Pengaruh penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap saat muncul tunas eksplan *A. annua* secara *in vitro*

Gambar 1 menunjukkan bahwa baik dengan BAP maupun tanpa BAP, semua eksplan dapat memunculkan tunas. Tunas dapat muncul karena pada eksplan telah mempunyai mata tunas sehingga ketika eksplan ditanam dalam media kultur terjadi pemanjangan mata tunas tersebut. Hariyanti *et al.* (2004) melaporkan bahwa pada eksplan pisang talas, konsentrasi BAP yang semakin meningkat akan mempercepat waktu pembentukan tunas. Namun pada penelitian ini, kemunculan tunas 17 t justru diperoleh pada perlakuan tanpa penambahan BAP dan NAA yaitu 7,67 HST. Pemberian BAP pada berbagai konsentrasi tidak mampu mempercepat saat kemunculan tunas dan jika dikombinasikan, perlakuan B3N1 (3 ppm BAP dan 0,25 NAA) menunjukkan rata-rata waktu pembentukan tunas paling lambat yaitu 16,67 HST (Gambar 1). Fenomena ini mengindikasikan bahwa saat kemunculan tunas tidak bergantung pada penambahan sitokinin yang dalam penelitian ini adalah BAP. Hal ini dimungkinkan bahwa kandungan sitokinin endogen di dalam eksplan *A. annua* sudah mencukupi untuk pembentukan tunas sehingga sitokinin eksogen yang ditambahkan pada media kultur tidak dapat mempercepat saat kemunculan tunas. Bahkan cenderung memperlambatnya.

Oleh karena itu pada penelitian ini, perlakuan tanpa BAP atau BAP dalam konsentrasi yang rendah, eksplan tetap mampu membentuk tunas.

Penambahan NAA juga tidak mampu mempercepat saat kemunculan tunas. Hariyanti *et al.* (2004) melaporkan bahwa pemberian auksin eksogen yang semakin meningkat, pengaruh hambatannya terhadap waktu pembentukan tunas semakin meningkat pula. Namun, pada penelitian ini terlihat bahwa dengan meningkatnya konsentrasi NAA, pengaruh hambatannya terhadap saat kemunculan tunas terlihat bervariasi (Gambar 1). Hal ini dimungkinkan bahwa di dalam eksplan telah terkandung auksin endogen yang kadarnya tidak persis sama. Keseragaman ukuran dan cara pengambilan eksplan kemungkinan besar tidak diikuti dengan keseragaman hormon endogen tanaman sehingga penambahan auksin eksogen ke dalam media kultur akan menimbulkan respon yang bervariasi.

Tunas adventif juga muncul pada beberapa eksplan yang membentuk kalus. Tunas adventif merupakan tunas yang berasal dari sel atau jaringan eksplan yang sebelumnya tidak mempunyai mata tunas (Yusnita, 2003). Pada akhir pengamatan, terlihat adanya tonjolan-tonjolan (± 2 mm) berwarna hijau pada kalus yang telah terbentuk (Gambar 2). Tonjolan-tonjolan tersebut merupakan tunas adventif yang akan tumbuh menjadi tunas baru. Tunas adventif muncul pada perlakuan B1N2 (1 ppm BAP dan 0,5 ppm NAA) dan B3N2 (3 ppm BAP dan 0,5 ppm NAA). Terbentuknya tunas adventif ini diduga adanya pengaruh dari penambahan sitokinin dalam hal ini adalah BAP ke dalam media kultur. Sesuai dengan pendapat Yusnita (2003) yang menyatakan bahwa sitokinin dapat merangsang pembentukan tunas adventif. Hal ini juga terjadi pada mikropropagasi pisang abaka. Penambahan BAP dapat memicu induksi tunas adventif dari eksplan yang dikulturkan (Avivi dan Ikrarwati, 2004). Namun, George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa terbentuknya tunas adventif dipengaruhi oleh adanya interaksi antara auksin dan sitokinin.



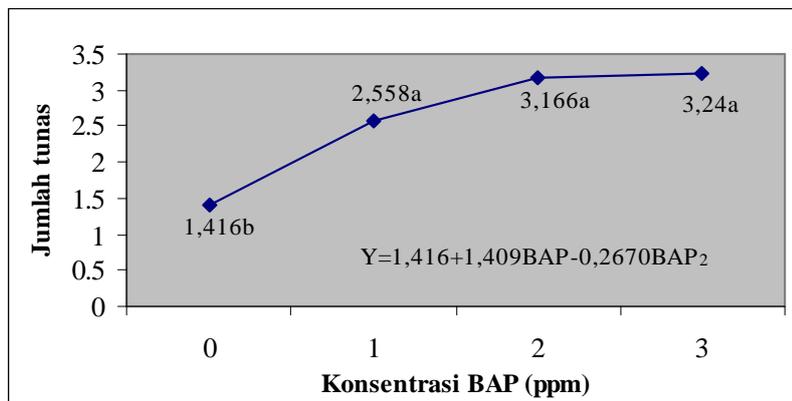
tunas adventif

Gambar 2. Tunas adventif yang terbentuk setelah penambahan BAP 1 ppm dan NAA 0,5 ppm pada kultur *in vitro* *A. annua*

11. Jumlah Tunas

Jumlah tunas merupakan faktor terpenting dalam multiplikasi tanaman pada kultur jaringan. Semakin banyak tunas yang terbentuk, dapat dilakukan multiplikasi kultur untuk mendapatkan tunas-tunas baru dalam jumlah yang semakin banyak juga. Perhitungan jumlah tunas dilakukan pada keseluruhan tunas yang muncul pada eksplan baik itu tunas yang berasal dari pemanjangan mata tunas maupun tunas adventif (bukan berasal dari mata tunas).

Hasil analisis sidik ragam (Lampiran 11) menunjukkan bahwa pemberian BAP pada berbagai taraf konsentrasi berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas tetapi pemberian NAA maupun interaksi antara keduanya tidak berpengaruh nyata terhadap variabel jumlah tunas. Pemberian BAP pada berbagai taraf konsentrasi ternyata efektif untuk merangsang multiplikasi tunas *A. annua* secara *in vitro*. Hal ini disebabkan karena pertumbuhan yang dipacu oleh BAP mencakup pembelahan sel yang lebih cepat (Marlin, 2005a) sehingga eksplan *A. annua* mampu menggandakan tunas.



Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan 5%

Gambar 3. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap jumlah tunas *A. annua* secara *in vitro*

Setelah dilakukan uji regresi dan didapatkan persamaan $Y=1,416+1,409BAP-0,2670BAP^2$, terdapat kecenderungan bahwa dengan peningkatan konsentrasi BAP sampai 3 ppm akan meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk (Gambar 3). Hariyanti *et al.* (2004) menyebutkan bahwa penambahan sitokinin dalam konsentrasi yang tinggi memberikan pengaruh yang baik terhadap pembentukan tunas dan menghasilkan jumlah tunas terbanyak. Namun, jika dilakukan DMRT 5% (Gambar 3) terlihat bahwa pemberian 1, 2 dan 3 ppm BAP tidak berbeda nyata satu sama lain dalam meningkatkan jumlah tunas tetapi berbeda nyata terhadap pemberian 0 ppm BAP. Dapat dikatakan bahwa pemberian 1 ppm BAP paling optimal untuk multiplikasi tanaman *A. annua* karena peningkatan konsentrasinya memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata secara DMRT 5% pada variabel jumlah tunas.

Pemberian NAA pada berbagai taraf konsentrasi tidak berpengaruh nyata terhadap variabel jumlah tunas (Lampiran 11). Ini berarti bahwa pemberian NAA pada berbagai konsentrasi tidak mampu meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk pada eksplan karena jumlah tunas lebih dipengaruhi oleh penambahan sitokinin. Analisis sidik ragam juga menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara kedua perlakuan (Lampiran 11). Hal ini diduga bahwa untuk penggandaan tunas, penambahan sitokinin eksogen akan berinteraksi

dengan auksin endogen yang terkandung di dalam eksplan. Ini membuktikan bahwa pertumbuhan dan morfogenesis tanaman secara *in vitro* dikendalikan oleh keseimbangan dan interaksi antara zat pengatur tumbuh baik yang terkandung dalam eksplan itu sendiri (endogen) maupun yang diserap dari media (eksogen). Gunawan (1987) menyebutkan bahwa interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur. Penambahan auksin atau sitokinin eksogen mengubah level zat pengatur tumbuh endogen sel.

12. Warna Tunas

Variabel warna tunas mengindikasikan kandungan klorofil yang terbentuk. Warna tunas dan daun yang semakin hijau berarti kandungan klorofilnya semakin tinggi. Klorofil berfungsi pada proses fotosintesis. Pengamatan warna tunas didasarkan pada skoring 0-4.

Tabel 1 memperlihatkan bahwa rata-rata warna tunas yang terbentuk adalah hijau muda. Warna hijau hanya diperoleh pada perlakuan 3 ppm BAP dan 0,5 ppm NAA (B3N2). Tidak terdapat kecenderungan dengan penambahan BAP akan meningkatkan warna hijau. Padahal, menurut Santoso dan Nursandi (2004), sitokinin dapat mendorong pembentukan klorofil. Tidak terjadi peningkatan warna hijau ini dimungkinkan karena adanya penambahan NAA pada media kultur maupun karena adanya auksin endogen sehingga kerja BAP dalam mendorong pembentukan klorofil menjadi terhambat. Sesuai dengan yang diungkapkan oleh George dan Sherrington (1984), sitokinin dapat mendukung pembentukan klorofil sedangkan auksin bekerja untuk menghambatnya.

Tabel 1. Pengaruh penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap warna tunas eksplan *A. annua* secara *in vitro*

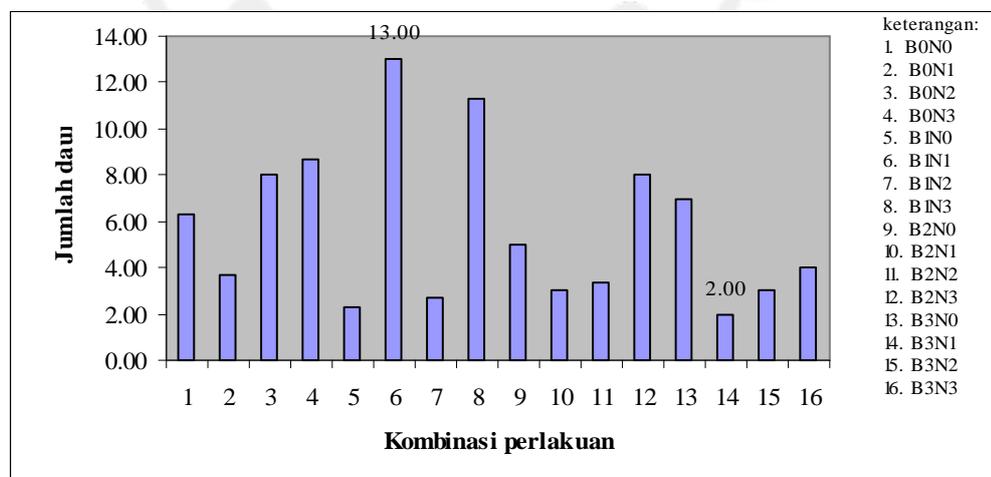
Perlakuan	Skoring	Warna tunas
B0N0 (BAP 0 ppm + NAA 0 ppm)	2	Hijau muda
B0N1 (BAP 0 ppm + NAA 0,25 ppm)	2	Hijau muda
B0N2 (BAP 0 ppm + NAA 0,5 ppm)	2	Hijau muda
B0N3 (BAP 0 ppm + NAA 1 ppm)	2	Hijau muda

B1N0 (BAP 1 ppm + NAA 0 ppm)	2	Hijau muda
B1N1 (BAP 1 ppm + NAA 0,25 ppm)	2	Hijau muda
B1N2 (BAP 1 ppm + NAA 0,5 ppm)	2	Hijau muda
B1N3 (BAP 1 ppm + NAA 1 ppm)	2	Hijau muda
B2N0 (BAP 2 ppm + NAA 0 ppm)	2	Hijau muda
B2N1 (BAP 2 ppm + NAA 0,25 ppm)	2	Hijau muda
B2N2 (BAP 2 ppm + NAA 0,5 ppm)	2	Hijau muda
B2N3 (BAP 2 ppm + NAA 1 ppm)	2	Hijau muda
B3N0 (BAP 3 ppm + NAA 0 ppm)	2	Hijau muda
B3N1 (BAP 3 ppm + NAA 0,25 ppm)	2	Hijau muda
B3N2 (BAP 3 ppm + NAA 0,5 ppm)	3	Hijau
B3N3 (BAP 3 ppm + NAA 1 ppm)	2	Hijau muda

Sumber : Data hasil pengamatan

13. Jumlah Daun

Daun muncul pada hampir semua kombinasi perlakuan. Jumlah daun dipengaruhi oleh adanya penambahan zat pengatur tumbuh ke dalam media. Jumlah daun terbanyak diperoleh pada perlakuan B1N1 (1 ppm BAP dan 0,25 ppm NAA) dan jumlah daun terkecil diperoleh pada perlakuan B3N1 (3 ppm BAP dan 0,25 ppm NAA) (Gambar 4). Wetherel (1982) menyebutkan bahwa perbandingan sitokinin-auksin yang tinggi, baik untuk pembentukan daun. Namun, pada penelitian ini, jumlah daun yang muncul pada eksplan terlihat bervariasi. Variasi jumlah daun ini dimungkinkan karena adanya hormon endogen yang kadarnya tidak persis sama sehingga responnya terhadap penambahan zat pengatur tumbuh juga bervariasi.



Keterangan :

B0 : 0 ppm BAP

B1 : 1 ppm BAP

B2 : 2 ppm BAP

B3 : 3 ppm BAP

N0 : 0 ppm BAP N1 : 0,25 ppm NAA N2 : 0,5 ppm NAA N3 : 1 ppm NAA

Gambar 4. Pengaruh Penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap jumlah daun eksplan *A. annua* secara *in vitro*

Daun yang terbentuk pada eksplan yang telah berakar juga relatif tinggi dengan ukuran dan penampakan visual yang normal. Akar muncul pada penambahan NAA tunggal 0,5 ppm dan 1 ppm tanpa penambahan BAP. Akar dapat menyerap nutrisi yang berada dalam media kultur sehingga dapat digunakan untuk pertumbuhan tanaman termasuk juga pembentukan daun. Akar juga dapat mensintesis sitokinin sehingga kandungan sitokinin endogen menjadi meningkat. Peningkatan level sitokinin endogen ini dapat meningkatkan jumlah daun yang terbentuk. Wetherel (1982) menyebutkan bahwa pembentukan dan perkembangan daun-daun yang normal tergantung dari sitokinin yang biasanya disintesa di dalam akar dan diangkut ke pucuk tanaman. Salisbury dan Ross (1995) juga berhasil membuktikan bahwa sitokinin dari akar mampu memacu pertumbuhan daun.

Pada media yang mengandung 2 dan 3 ppm BAP tanpa penambahan NAA, terbentuk ruas-ruas daun yang pendek, berkumpul pada pangkal batang dan membentuk roset (Gambar 5). Hal ini dimungkinkan karena adanya penggunaan BAP dalam konsentrasi yang tinggi tanpa penambahan NAA sehingga sel terus menerus membelah tetapi pemanjangan sel kurang terpacu. Manullang *et al.* (2003) menyebutkan bahwa NAA bermanfaat untuk proses pemanjangan sel pada jaringan tunas muda sedangkan BAP dapat merangsang pembentukan organ-organ tanaman. Hal ini juga terjadi pada eksplan kunir putih (Arniputri *et al.*, 2003). Penambahan BAP pada konsentrasi yang tinggi menyebabkan tunasnya berbentuk roset dengan ruas-ruas pendek.



Gambar 5. Terbentuknya daun roset setelah penambahan 2 ppm BAP tanpa NAA pada kultur *in vitro* *A. annua*

Pada penelitian ini, terdapat tunas dan daun yang terlihat tebal dengan kandungan air jaringan terlalu tinggi, sukulen, tembus cahaya, tampak lemah, rapuh, dan jika dipelihara terlalu lama maka kemungkinan tunas dan daunnya akan mati. Hal ini merupakan gejala terjadinya vitrifikasi (Gambar 6). Yusnita (2003) menyebutkan bahwa vitrifikasi sering disebabkan oleh terlalu tingginya konsentrasi sitokinin, terlalu rendahnya konsentrasi agar, dan tingginya konsentrasi ion amonium.



Gambar 6. Tunas dan daun yang mengalami vitrifikasi pada kultur *in vitro* *A. annua*

14. Saat Muncul Kalus

Kalus adalah suatu jaringan hidup hasil dari suatu pertumbuhan yang terdiri dari massa yang tidak teratur (Wetherel, 1982). Pada penelitian ini, kalus pertama kali terbentuk pada ujung eksplan yang kontak dengan media. Diawali dengan pembengkakan pada eksplan kemudian kalus muncul pada dasar eksplan berwarna kehijauan. Wetter dan Constabel (1991) menyatakan bahwa jika pembentukan tunas telah diinduksi pada eksplan tanpa produk akar sekaligus, pada dasar tanaman tersebut biasanya akan terbentuk kalus.

Tabel 2. Pengaruh penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap saat muncul kalus eksplan *A. annua* secara *in vitro*

Perlakuan	Rata- rata saat muncul kalus (HST)
-----------	------------------------------------

B0N0 (BAP 0 ppm + NAA 0 ppm)	-
B0N1 (BAP 0 ppm + NAA 0,25 ppm)	-
B0N2 (BAP 0 ppm + NAA 0,5 ppm)	-
B0N3 (BAP 0 ppm + NAA 1 ppm)	-
B1N0 (BAP 1 ppm + NAA 0 ppm)	-
B1N1 (BAP 1 ppm + NAA 0,25 ppm)	15,00
B1N2 (BAP 1 ppm + NAA 0,5 ppm)	9,33
B1N3 (BAP 1 ppm + NAA 1 ppm)	9,00
B2N0 (BAP 2 ppm + NAA 0 ppm)	-
B2N1 (BAP 2 ppm + NAA 0,25 ppm)	15,00
B2N2 (BAP 2 ppm + NAA 0,5 ppm)	-
B2N3 (BAP 2 ppm + NAA 1 ppm)	11,33
B3N0 (BAP 3 ppm + NAA 0 ppm)	-
B3N1 (BAP 3 ppm + NAA 0,25 ppm)	-
B3N2 (BAP 3 ppm + NAA 0,5 ppm)	12,00
B3N3 (BAP 3 ppm + NAA 1 ppm)	14,00

Sumber : Data hasil pengamatan Ket. :-) : tidak muncul kalus; HST : Hari Setelah Tanam

Tidak semua kombinasi perlakuan mampu memunculkan kalus (Tabel 2). Auksin umumnya ditambahkan ke dalam nutrisi media untuk menginduksi kalus dari eksplan (George dan Sherrington, 1984). Pada penelitian ini, tidak semua eksplan yang diberi tambahan NAA mampu memunculkan kalus. Pada perlakuan B0N2 (0 ppm BAP dan 0,5 ppm NAA) dan B0N3 (0 ppm BAP dan 1 ppm NAA) tidak terbentuk kalus. Pada perlakuan tersebut, dimungkinkan bahwa auksin lebih digunakan untuk pembentukan akar daripada pembentukan kalus. Kalus juga tidak terbentuk pada eksplan yang tidak diberi tambahan zat pengatur tumbuh maupun pada penambahan BAP tunggal. Kalus yang tidak muncul ini dimungkinkan karena tidak ada tambahan auksin dalam media kultur sedangkan auksin endogen dalam keadaan suboptimal untuk pembentukan kalus.

Kalus cepat terbentuk pada perlakuan B1N3 (1 ppm BAP dan 1 ppm NAA) yaitu pada 9 HST (Tabel 2). Induksi kalus memang dipengaruhi oleh auksin sedangkan sitokinin lebih berperan pada proliferasi kalus (Santoso dan Nursandi, 2003). Kemunculan kalus paling lambat terlihat pada perlakuan B1N1 (1 ppm BAP dan 0,25 ppm NAA) dan B2N1 (2 ppm BAP dan 0,25 ppm NAA) yaitu 15 HST. Hal ini diduga bahwa pada perlakuan ini respon eksplan terhadap zat pengatur tumbuh lebih digunakan untuk pertumbuhan dan

multiplikasi tunas daripada mempercepat kemunculan kalus. Sudarmadji (2003) mengungkapkan bahwa jika konsentrasi BAP yang digunakan kurang sesuai maka kalus akan lambat muncul yang akhirnya bersifat juga sebagai penghambat pertumbuhannya.

15. Tekstur Kalus

Tekstur kalus yang muncul pada eksplan dikelompokkan menjadi 2 yaitu *friable* (remah) dan *nonfriable* (kompak). Kalus yang kompak mempunyai tekstur yang sulit untuk dipisahkan dan terlihat padat. Pada Tabel 3 terlihat bahwa hanya pada media dengan penambahan auksin yang mampu memunculkan kalus dan semua kalus yang terbentuk pada eksplan *A. annua* bertekstur remah (*friable*). Secara visual, kalus remah yang terbentuk pada eksplan *A. annua* ikatan antar selnya tampak renggang, mudah dipisahkan dan jika diambil dengan pinset, kalus mudah pecah dan ada yang menempel pada pinset.

Tabel 3. Pengaruh penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap tekstur kalus eksplan *A. annua* secara *in vitro*

Perlakuan	Tekstur kalus
B0N0 (BAP 0 ppm + NAA 0 ppm)	-
B0N1 (BAP 0 ppm + NAA 0,25 ppm)	-
B0N2 (BAP 0 ppm + NAA 0,5 ppm)	-
B0N3 (BAP 0 ppm + NAA 1 ppm)	-
B1N0 (BAP 1 ppm + NAA 0 ppm)	-
B1N1 (BAP 1 ppm + NAA 0,25 ppm)	Remah
B1N2 (BAP 1 ppm + NAA 0,5 ppm)	Remah
B1N3 (BAP 1 ppm + NAA 1 ppm)	Remah
B2N0 (BAP 2 ppm + NAA 0 ppm)	-
B2N1 (BAP 2 ppm + NAA 0,25 ppm)	Remah
B2N2 (BAP 2 ppm + NAA 0,5 ppm)	-
B2N3 (BAP 2 ppm + NAA 1 ppm)	Remah

B3N0 (BAP 3 ppm + NAA 0 ppm)	-
B3N1 (BAP 3 ppm + NAA 0,25 ppm)	-
B3N2 (BAP 3 ppm + NAA 0,5 ppm)	Remah
B3N3 (BAP 3 ppm + NAA 1 ppm)	Remah

Sumber : Data hasil pengamatan Ket. :-): tidak muncul kalus

Kalus yang terbentuk sebagian besar tidak mampu mendominasi pertumbuhan pada eksplan *A. annua*. Eksplan lebih didominasi oleh pertumbuhan tunas. Namun, bukan berarti bahwa kalus yang terbentuk tidak mampu berkembang. Kalus mampu berkembang hanya saja memerlukan waktu yang lebih lama. Terdapat perlakuan yang pertumbuhannya didominasi oleh kalus daripada tunas yaitu pada perlakuan B3N2 (3 ppm BAP dan 0,5 ppm NAA). Pada perlakuan ini, kalus menutupi semua permukaan eksplan dan tunas yang terbentuk pada eksplan merupakan tunas adventif yang berasal dari kalus.

16. Saat Muncul Akar

Akar merupakan organ vegetatif utama yang memasok air, mineral dan bahan-bahan yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Gardner *et al.*, 1991). Saat munculnya akar menjadi faktor yang penting dalam pertumbuhan tanaman karena tanaman akan lebih mudah menyerap unsur-unsur yang terdapat dalam media kultur.

Tabel 4. Pengaruh penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap saat muncul akar eksplan *A. annua* secara *in vitro*

Saat muncul akar eksplan <i>A. annua</i> (HST)					
BAP (ppm) \ NAA (ppm)	0	1	2	3	Rata-rata (HST)
0	-	-	-	-	-
0,25	-	-	-	-	-
0,5	15	-	-	-	15
1	16,5	-	-	-	16,5
Rata-rata (HST)	15,75	-	-	-	

Ket. :-): tidak muncul akar

Pada penelitian ini, tidak semua eksplan mampu memunculkan akar. Akar hanya muncul pada perlakuan pemberian NAA tunggal tanpa BAP

(Tabel 4). Terlihat bahwa auksin yang ditambahkan dalam media dapat merangsang terbentuknya akar pada eksplan. Sesuai dengan yang diungkapkan oleh Wetherel (1982) bahwa auksin dapat merangsang pembentukan akar.

Pada Tabel 4 terlihat bahwa hanya media dengan penambahan 0,5 ppm NAA dan 1 ppm NAA tanpa penambahan BAP yang mampu memunculkan akar pada eksplan *A. annua* secara *in vitro*. Namun, penambahan 0,25 ppm NAA pada media kultur belum mampu memunculkan akar. Hal ini diduga karena konsentrasi NAA yang ditambahkan terlalu rendah sehingga eksplan tidak mampu membentuk akar. Perlakuan penambahan 0,5 ppm NAA mampu memunculkan akar yang lebih cepat (15 HST) daripada perlakuan 1 ppm NAA (16,5 HST). Hal senada juga terjadi pada Gladiol kultivar Malang Strip dan White Friendship, inisiasi akar tercepat diperoleh dari media yang mengandung 0,5 ppm NAA (Badriah *et al.*, 1998). Selain itu, Avivi dan Ikrarwati (2004) menyebutkan bahwa konsentrasi NAA yang lebih tinggi dari 1 ppm menyebabkan eksplan pisang abaka membentuk akar dalam waktu yang lebih lama.

Penambahan sitokinin dalam berbagai konsentrasi tidak diperlukan untuk kecepatan pembentukan akar karena tidak ada satupun eksplan yang mampu berakar pada media yang diberi tambahan sitokinin. Hal ini diduga bahwa dengan penambahan BAP, eksplan lebih terfokus pada multiplikasi tunas daripada memunculkan akar. Pada eksplan pisang talas, dengan semakin meningkatnya konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP yang diberikan pada media, menunjukkan rata-rata waktu pembentukan akar yang semakin lambat (Hariyanti *et al.*, 2004). Sitokinin berkonsentrasi tinggi (0,5–10 mg/l) umumnya menghambat terbentuknya akar (Schraudolf and Reinert, 1959; Harris and Hart, 1964 *cit* George dan Sherrington, 1984).

17. Jumlah Akar

Jumlah akar yang banyak dapat mengoptimalkan penyerapan nutrisi yang ada pada media kultur. Secara visual, akar yang terbentuk pada eksplan *A. annua* berwarna putih, mempunyai percabangan dan terbentuk pada dasar eksplan (Gambar 7).

Tabel 5. Pengaruh penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap jumlah akar eksplan *A. annua* secara *in vitro*

Jumlah akar eksplan <i>A. annua</i>					
BAP (ppm) \ NAA (ppm)	0	1	2	3	Rata-rata
0	-	-	-	-	-
0,25	-	-	-	-	-
0,5	32	-	-	-	32
1	21	-	-	-	21
Rata-rata	27	-	-	-	-

Ket : -) : tidak muncul akar

Hasil percobaan menunjukkan bahwa hanya ada dua kombinasi perlakuan yang mampu memunculkan akar pada eksplan *A. annua* (Tabel 5). Perlakuan NAA tunggal tanpa BAP mampu menstimulir terbentuknya akar. Badriah *et al.* (1998) menyatakan bahwa pemberian NAA dalam konsentrasi yang relatif tinggi dapat meningkatkan jumlah akar. Namun pada penelitian ini jumlah akar terbanyak diperoleh pada penambahan 0,5 ppm NAA (Tabel 5). Peningkatan konsentrasi NAA menjadi 1 ppm justru menurunkan jumlah akar yang terbentuk pada eksplan *A. annua* karena respon auksin berhubungan dengan konsentrasinya dan konsentrasi yang tinggi bersifat menghambat (Gardner *et al.*, 1991).

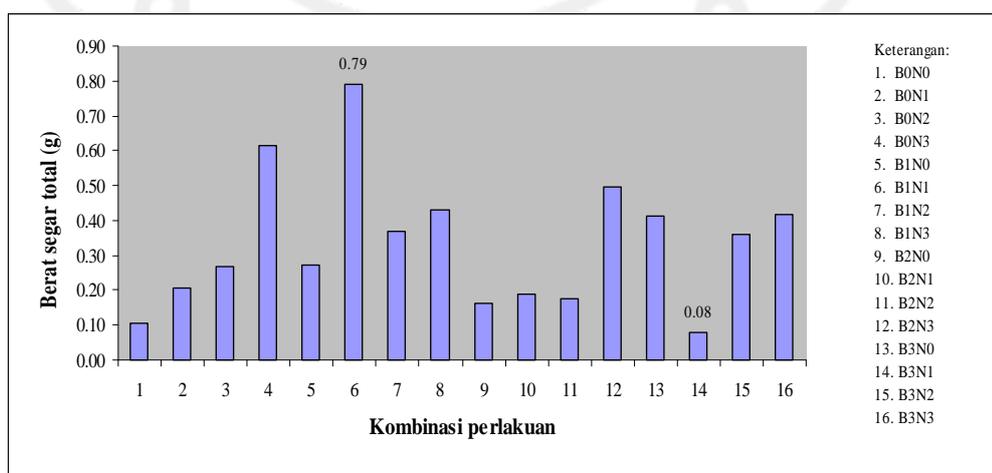
Penambahan BAP pada berbagai konsentrasi tidak mampu memunculkan akar. Hal ini diduga bahwa pemberian BAP pada media kultur lebih banyak digunakan untuk multiplikasi tunas daripada pembentukan akar. Senada dengan hasil penelitian Marlin (2005b) pada eksplan jahe, penambahan BAP dalam konsentrasi yang lebih tinggi pada media menyebabkan eksplan lebih terfokus pada multiplikasi tunas sehingga menyebabkan terhambatnya eksplan untuk membentuk akar. Pada eksplan *A. annua* asal Irian Jaya, pemberian BAP 0 ppm dengan penambahan NAA akan diperoleh jumlah akar yang relatif tinggi (Sugiarso, 1996).



Gambar 7. Akar yang terbentuk setelah penambahan BAP 0 ppm dan NAA 0,5 ppm pada kultur *in vitro* *A. annua*

18. Berat Segar Total

Berat segar secara fisiologis terdiri dari dua kandungan yaitu air dan karbohidrat (Ruswaningih, 2008). Uji F pada taraf 10% menunjukkan bahwa penambahan BAP dan NAA pada media kultur serta interaksi antara keduanya tidak berpengaruh nyata terhadap berat segar total eksplan *A. annua* secara *in vitro* (Lampiran 13). Hal ini dimungkinkan karena beragamnya pertumbuhan eksplan yang muncul pada penelitian ini. Eksplan dapat menumbuhkan tunas saja, tunas dan kalus maupun tunas dan akar. Tampaknya, keberagaman tipe pertumbuhan eksplan mempengaruhi berat basah total yang dihasilkan.



Keterangan :

B0 : 0 ppm BAP

N0 : 0 ppm BAP

B1 : 1 ppm BAP

N1 : 0,25 ppm NAA

B2 : 2 ppm BAP

N2 : 0,5 ppm NAA

B3 : 3 ppm BAP

N3 : 1 ppm NAA

Gambar 8. Pengaruh Penambahan BAP dan NAA pada media kultur terhadap berat segar total eksplan *A. annua* secara *in vitro*

Berat segar total yang dihasilkan terlihat bervariasi (Gambar 8). Berat segar total tertinggi didapatkan pada perlakuan 1 ppm BAP dan 0,25 ppm NAA (B1N1). Pada perlakuan ini, eksplan menghasilkan rata-rata jumlah tunas yang tinggi (3,33 tunas) meskipun bukan yang tertinggi, jumlah daun terbanyak (13 daun), serta menghasilkan kalus pada semua eksplan yang dikulturkan. Penggandaan tunas dipengaruhi oleh BAP yang ditambahkan pada media. Kalus yang terbentuk pada perlakuan ini, dipengaruhi oleh adanya auksin baik endogen maupun eksogen dengan penambahan NAA. BAP juga berpengaruh terhadap proliferasi kalus sehingga kalus mampu berkembang dan dapat menambah berat segar total yang dihasilkan.

Berat segar terendah diperoleh pada perlakuan dengan penambahan 3 ppm BAP dan 0,25 ppm NAA (B3N1). Hal ini disebabkan karena pada perlakuan ini tunas lambat muncul. Bahkan memiliki saat terbentuk tunas paling lambat dibandingkan perlakuan yang lain, memiliki jumlah daun yang sedikit (2 daun) serta pada ketiga ulangnya tidak mampu memunculkan kalus.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Media dengan penambahan 1 ppm BAP paling optimal untuk multiplikasi tanaman *Artemisia annua* L. secara *in vitro*.
2. Saat muncul tunas tercepat dihasilkan pada media tanpa penambahan zat pengatur tumbuh.
3. Kombinasi perlakuan 1 ppm BAP dan 1 ppm NAA menghasilkan saat muncul kalus tercepat dan semua kalus yang dihasilkan bertekstur remah.
4. Pemberian 0,5 ppm NAA tanpa BAP memberikan saat muncul akar tercepat dan jumlah akar terbanyak.

5. Kombinasi perlakuan 1 ppm BAP dan 0,25 ppm NAA memberikan jumlah daun terbanyak dan berat segar total terbesar.

B. Saran

1. Untuk multiplikasi tanaman *A. annua* secara *in vitro* dapat digunakan media dengan penambahan BAP.
2. Perlu penelitian lanjutan dengan pemberian zat pengatur tumbuh yang sesuai pada subkultur tunas-tunas *A. annua* yang telah dihasilkan untuk kemudian diakarkan sampai tahap aklimatisasi plantlet.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2007a. *Tujuh Tanaman Pengusir Malaria*. <http://www.tabloidnova.com/articles.asp?id=7432>. Diakses tanggal 10 Oktober 2007.
- . 2007b. *Artemisia annua*. [http://www.en.wikipedia.org/wiki/Artemisia annua](http://www.en.wikipedia.org/wiki/Artemisia_annua). Diakses tanggal 24 November 2007.
- Arniputri, R. B., Praswanto, dan D. Purnomo. 2003. Pengaruh Konsentrasi IAA dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman Kunir Putih. *Jurnal Agrosains* 5 (2): 48-51.
- Avivi, S. dan Ikrarwati. 2004. Mikropropagasi Pisang Abaka (*Musa textillis* Nee) Melalui Teknik Kultur Jaringan. *Jurnal Ilmu Pertanian* 11 (2): 27-34.
- Badriah, D. S., N. T. Mathius dan T. Sutater. 1998. Tanggap Dua Kultivar Gladiol terhadap Zat Pengatur Tumbuh pada Perbanyakan *In Vitro*. *Jurnal Hortikultura* 8 (2): 1048-1059 32
- Ermayanti, T. M., Y. Andri., D. N. Wulandari dan E. Al Hafiidz. 2002. Mikropropagasi *Artemisia cina* dan *Artemisia annua*. *Seminar Nasional Pemanfaatan dan Pelestarian Plasma Nutfah*. Bogor 3-4 September 2002.
- Gardner, F. P., R. B. Pearce, dan R. L. Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- George, E. F dan P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Eastern Press. Reading Berks.
- Gunawan, L. W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. PAU Bioteknologi IPB. Bogor.
- Gusmaini dan H. Nurhayati. 2007. Potensi Pengembangan Budidaya *Artemisia annua* L. di Indonesia. *Perspektif* 6 (2): 57-67.

- Hariyanti, E., R. Nirmala., dan Rudarmono. 2004. Mikropropagasi Tanaman Pisang Talas dengan Naphtalene Acetic Acid (NAA) dan Benzyl Amino Purine (BAP). *Jurnal Budidaya Pertanian* 10 (1): 26-34.
- Hendaryono, D. P. S dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan, Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman Secara Vegetatif-Modern*. Kanisius. Yogyakarta.
- Kardinan, A. 2006. Tanaman Artemisia Penakluk Penyakit Malaria. <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0604/20/ilpeng/2592372.htm>. Diakses tanggal 7 Agustus 2007.
- Kristina, N. N., N. Strai, dan N. Bermawie. 2005. Multiplikasi Tunas, Perakaran dan Aklimatisasi Tanaman Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*). *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat* 16 (2): 56-64.
- Kusumodewi, Y. 2005. *Kajian Hasil Penelitian dan Pengembangan Budidaya Tanaman Artemisia annua L*. Balai Penelitian Tanaman Obat. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Departemen Kesehatan RI.
- Manullang, I. N., E. D. Sulichantini, dan N. Suswantini. 2003. Respon Pertumbuhan Jahe Putih (*Zingiber officinale* var *officinale*) secara *In Vitro* pada Media Murashige-Skoog 33 1 penambahan NAA dan BAP. *Jurnal Budidaya Pertanian* 9 (2): 88-91.
- Marlin. 2005a. Regenerasi *In Vitro* Plantlet Jahe Bebas Penyakit Layu Bakteri Pada Beberapa Taraf Konsentrasi 6-Benzyl Amino Purine (BAP) dan 1-Naphtalene Acetic Acid (NAA). *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia* 7(1): 8-14.
- , 2005b. Pembentukan Rimpang Mikro Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) Secara *In Vitro* dengan Pemberian Benzyl Amino Purine dan Sukrosa. *Jurnal Akta Agrosia* 8 (2): 70-73.
- Namdeo, A.G., Mahadik, K. R dan Kadam, S. S. 2006. Antimalarial Drug-*Artemisia annua*. *Pharmacognosy Magazine* 2 (6): 106-111.
- Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2 (3): 113-126.
- Rahardja dan W. Wiryanta. 2003. *Aneka Cara memperbanyak Tanaman*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Ruswaningsih, F. 2008. Pengaruh Konsentrasi Amonium Nitrat dan BAP terhadap Pertumbuhan Eksplan Pucuk *Artemisia annua L*. pada Kultur *In Vitro*. Skripsi Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Salisbury, F. B. dan C. W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid III*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Santoso, U. dan F. Nursandi. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Universitas Muhammadiyah Malang Press. Malang.

- Simatupang, S. 1996. Pengaruh Penambahan Sitokinin dan Asam Naftalen Asetat pada Media Murashige dan Skoog terhadap Perkembangan Eksplan Asparagus. *Jurnal Hortikultura* 6 (2): 105-108.
- Sudarmadji. 2003. Pengaruh Benzyl Amino Purine pada Pertumbuhan Kalus Kapas secara *In Vitro*. *Buletin Teknik Pertanian* 8 (1): 8-10.
- Sugiarso, S. 1996. *Penelitian Budidaya Artemisia annua L. Asal Irian Jaya Melalui Teknik Kultur Jaringan*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan R. I. Tawangmangu.
- Supriyati, N., H. Widodo, H. Sudrajat, dan Suparno. 2006. Produksi Artemisinin dari *Artemisia annua L.* Melalui Kultur *In Vitro*. Balai Penelitian Tanaman Obat. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Departemen Kesehatan RI.
- Suryadi, H. 2005. Artemisia Obat Malaria Terkini. <http://www.pustakatani.org/BeritaGlobal/tabid/54/ctl/ArticleView/mid/368/articleId/31/ArtemisiaObatMalariaTerkini.aspx>. Diakses tanggal 7 Agustus 2007.
- Wetherel, D. F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman secara In vitro*. Avery Publishing Group, Inc. New Jersey.
- Wetter, L. R. dan F. Constabel. 1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. ITB Press. Bandung.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Yuwono, T. 2006. *Bioteknologi Pertanian*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Zia, M., R. Rehman., dan M. F. Chaudary. 2007. Hormonal Regulation for Callogenesis and Organogenesis of *Artemisia absinthium L.* *African Journal of Biotechnology* 6 (16): 1874-1878.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil pengamatan saat muncul tunas *A. annua* secara *in vitro* (HST)

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
B0N0	5	12	6	7,67
B0N1	22	9	9	13,33
B0N2	6	13	29	16,00
B0N3	12	13	7	10,67
B1N0	7	16	10	11,00
B1N1	10	8	14	10,67
B1N2	7	12	11	10,00
B1N3	12	9	8	9,67
B2N0	6	15	9	10,00
B2N1	17	9	10	12,00
B2N2	3	10	14	9,00
B2N3	13	11	10	11,33
B3N0	9	5	13	9,00
B3N1	9	18	23	16,67
B3N2	9	9	23	13,67
B3N3	19	6	10	11,67

Sumber : Data hasil pengamatan

Keterangan : HST (Hari Setelah Tanam)

Lampiran 2. Hasil pengamatan jumlah tunas *A. annua* secara *in vitro*

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
B0N0	1	1	1	1,00
B0N1	1	1	1	1,00
B0N2	1	1	2	1,33
B0N3	1	3	1	1,67
B1N0	2	2	6	3,33
B1N1	1	7	2	3,33
B1N2	1	7	2	3,33
B1N3	4	1	1	2,00
B2N0	1	2	1	1,33
B2N1	5	3	3	3,67
B2N2	1	3	2	2,00
B2N3	5	4	4	4,33
B3N0	3	1	2	2,00
B3N1	3	1	2	2,00
B3N2	4	2	4	3,33
B3N3	4	4	4	4,00

Sumber : Data hasil pengamatan

Lampiran 3. Hasil pengamatan warna tunas *A. annua* secara *In Vitro*

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
B0N0	2	2	1	2
B0N1	2	2	3	2
B0N2	4	1	2	2
B0N3	2	2	2	2
B1N0	2	3	2	2
B1N1	2	3	2	2
B1N2	2	2	1	2
B1N3	2	2	2	2
B2N0	2	1	2	2
B2N1	3	1	2	2
B2N2	2	2	1	2
B2N3	3	2	2	2
B3N0	2	1	2	2
B3N1	2	2	2	2
B3N2	3	3	4	3
B3N3	2	3	2	2

Sumber : Data hasil pengamatan

Keterangan skoring warna tunas :

0 = putih 1 = kuning 2 = hijau muda 3 = hijau 4 = hijau tua

Lampiran 4. Hasil pengamatan jumlah daun *A. annua* secara *In Vitro*

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
B0N0	12	6	1	6,33
B0N1	1	6	4	3,67
B0N2	14	2	-	8,00
B0N3	10	10	6	8,67
B1N0	2	3	2	2,33
B1N1	3	35	1	13,00
B1N2	4	2	2	2,67
B1N3	4	7	23	11,33
B2N0	12	2	1	5,00
B2N1	4	2	3	3,00
B2N2	6	2	2	3,33
B2N3	16	4	4	8,00
B3N0	2	17	2	7,00
B3N1	2	-	2	2,00
B3N2	3	3	-	3,00
B3N3	-	4	4	4,00

Sumber : Data hasil pengamatan

Lampiran 5. Hasil pengamatan saat muncul kalus *A. annua* secara *In Vitro* (HST)

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
B0N0	-	-	-	-
B0N1	-	-	-	-
B0N2	-	-	-	-
B0N3	-	-	-	-
B1N0	-	-	-	-
B1N1	7	25	13	15,00
B1N2	8	9	11	9,33
B1N3	9	9	-	9,00
B2N0	-	-	-	-
B2N1	15	-	-	15,00
B2N2	-	-	-	-
B2N3	15	10	9	11,33
B3N0	-	-	-	-
B3N1	-	-	-	-
B3N2	14	-	10	12,00
B3N3	16	13	-	14,50

Sumber : Data hasil pengamatan

Keterangan : HST (Hari Setelah Tanam)

Lampiran 6. Hasil pengamatan tekstur kalus *A. annua* secara *in vitro*

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
B0N0	-	-	-	-
B0N1	-	-	-	-
B0N2	-	-	-	-
B0N3	-	-	-	-
B1N0	-	-	-	-
B1N1	remah	remah	remah	remah
B1N2	remah	remah	remah	remah
B1N3	remah	remah	-	remah
B2N0	-	-	-	-
B2N1	remah	-	-	remah
B2N2	-	-	-	-
B2N3	remah	remah	remah	remah
B3N0	-	-	-	-
B3N1	-	-	-	-
B3N2	remah	-	remah	remah
B3N3	remah	remah	-	remah

Sumber : Data hasil pengamatan

Lampiran 7. Hasil pengamatan saat muncul akar *A. annua* secara *in vitro* (HST)

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
B0N0	-	-	-	-
B0N1	-	-	-	-
B0N2	-	-	15	15,00
B0N3	19	14	-	16,50
B1N0	-	-	-	-
B1N1	-	-	-	-
B1N2	-	-	-	-
B1N3	-	-	-	-
B2N0	-	-	-	-
B2N1	-	-	-	-
B2N2	-	-	-	-
B2N3	-	-	-	-
B3N0	-	-	-	-
B3N1	-	-	-	-
B3N2	-	-	-	-
B3N3	-	-	-	-

Sumber : Data hasil pengamatan

Keterangan : HST (Hari Setelah Tanam)

Lampiran 8. Hasil pengamatan jumlah akar *A. annua* secara *in vitro*

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
				-
B0N0	-	-	-	-
B0N1	-	-	-	-
B0N2	-	-	32	32
B0N3	12	30	-	21
B1N0	-	-	-	-
B1N1	-	-	-	-
B1N2	-	-	-	-
B1N3	-	-	-	-
B2N0	-	-	-	-
B2N1	-	-	-	-
B2N2	-	-	-	-
B2N3	-	-	-	-
B3N0	-	-	-	-
B3N1	-	-	-	-
B3N2	-	-	-	-
B3N3	-	-	-	-

Sumber : Data hasil pengamatan

Lampiran 9. Hasil pengamatan berat segar total (g) *A. annua* secara *in vitro*

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
B0N0	0.17	0.06	0.08	0,10
B0N1	0.25	0.26	0.11	0,21
B0N2	0.68	0.08	0.04	0,27
B0N3	0.41	0.91	0.52	0,61
B1N0	0.51	0.13	0.18	0,27
B1N1	1.49	0.75	0.13	0,79
B1N2	0.15	0.82	0.13	0,37
B1N3	0.22	0.79	0.28	0,43
B2N0	0.25	0.12	0.12	0,16
B2N1	0.3	0.1	0.17	0,19
B2N2	0.33	0.14	0.06	0,17
B2N3	0.23	0.84	0.42	0,49
B3N0	0.35	0.54	0.35	0,41
B3N1	0.17	0.04	0.03	0,08
B3N2	0.26	0.15	0.67	0,36
B3N3	0.18	0.99	0.08	0,41

Sumber : Data hasil pengamatan

Lampiran 10. Analisis ragam uji F 5% saat muncul tunas *A. annua* secara *in vitro*

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	P
BAP	3	46,73	15,58	0,49	0,693 ^{ns}
NAA	3	95,56	31,85	1,00	0,407 ^{ns}
BAP*NAA	9	133,19	14,80	0,46	0,888 ^{ns}
Galat	32	1022,00	31,94		
Total	47	1297,48			

Keterangan : P > 0,05 : ns) berpengaruh tidak nyata (*non significant*)

Lampiran 11. Analisis ragam uji F 5% jumlah tunas *A. annua* secara *in vitro*

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	P
BAP	3	24,396	8,132	3,52	0,026*
NAA	3	7,062	2,354	1,02	0,398 ^{ns}
BAP*NAA	9	24,521	2,725	1,18	0,342 ^{ns}
Galat	32	74,000	2,312		
Total	47	129,979			

Keterangan : P < 0,05 : *) berpengaruh nyata (*significant*)

P > 0,05 : ns) berpengaruh tidak nyata (*non significant*)

Lampiran 12. Analisis ragam uji F 10% berat segar total *A. annua* secara *in vitro* (sebelum transformasi)

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	P
BAP	3	0,29695	0,09898	1,10	0,364 ^{ns}
NAA	3	0,42302	0,14101	1,57	0,217 ^{ns}
BAP*NAA	9	0,93987	0,10443	1,16	0,353 ^{ns}
Galat	32	2,88293	0,09009		
Total	47	4,54277			

Keterangan : P > 0,1 : ns) berpengaruh tidak nyata (*non significant*)

Lampiran 13. Analisis ragam uji F 10% berat segar total *A. annua* secara *in vitro* (setelah transformasi $\sqrt{}$)

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	P
BAP	3	0,16234	0,05411	1,03	0,392 ^{ns}
NAA	3	0,30560	0,10187	1,94	0,143 ^{ns}
BAP*NAA	9	0,64046	0,07116	1,35	0,249 ^{ns}
Galat	32	1,68130	0,05254		
Total	47	2,78970			

Keterangan : P > 0,1 : ns) berpengaruh tidak nyata (*non significant*)

Lampiran 14. Pengaruh BAP terhadap rerata jumlah tunas *A. annua* secara *in vitro*

BAP (ppm)	Rerata jumlah tunas
0	1,25b
1	3,00a
2	2,83a
3	2,83a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji duncan 5%

Lampiran 15. Hasil perhitungan analisis regresi untuk jumlah tunas *A. annua* secara *in vitro*

BAP (ppm)	Jumlah tunas
0	1,42
1	2,56
2	3,17
3	3,24

Keterangan : persamaan regresi jumlah tunas : $1,416 + 1,409 \text{ BAP} - 0,2670 \text{ BAP}^2$

Lampiran 16. Cara menentukan konsentrasi BAP dan NAA

1. BAP

Pembuatan larutan stok dengan cara menimbang 10 mg BAP kemudian ditetesi dengan NaOH sebagai pelarut dan diencerkan dengan akuadest sampai 100 ml sehingga larutan stok tersebut mempunyai konsentrasi 100 ppm. Cara menentukan volume untuk perlakuan misalnya pada perlakuan BAP 1 ppm dan akan membuat 1000 ml media, maka volume BAP yang dibutuhkan adalah :

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 1000 \text{ ml} \times 1 \text{ ppm} \\V_1 &= 10 \text{ ml}\end{aligned}$$

Berarti untuk memperoleh konsentrasi BAP 2 ppm, dibutuhkan pengambilan larutan stok sebanyak 20 ml untuk 1000 ml media sedangkan BAP 3 ppm dibutuhkan larutan stok sebanyak 30 ml.

2. NAA

Pembuatan larutan stok dengan cara menimbang 10 mg NAA kemudian ditetesi dengan NaOH sebagai pelarut dan diencerkan dengan akuadest sampai 100 ml sehingga larutan stok tersebut mempunyai konsentrasi 100 ppm. Cara menentukan volume untuk perlakuan misalnya pada perlakuan NAA 0,25 ppm dan akan membuat 1000 ml media, maka volume NAA yang dibutuhkan adalah :

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 1000 \text{ ml} \times 0,25 \text{ ppm} \\V_1 &= 2,5 \text{ ml}\end{aligned}$$

Berarti untuk memperoleh konsentrasi NAA 0,5 ppm, dibutuhkan pengambilan larutan stok sebanyak 5 ml untuk 1000 ml media sedangkan NAA 1 ppm dibutuhkan larutan stok sebanyak 10 ml.

Lampiran 17. Komposisi Garam-Garam Anorganik pada Medium MS

Makronutrien	mg/L	Konsentrasi dalam larutan stok (mg/10L)	Volume dalam medium (ml/l)
KN ₃	1.900	1.900 x 10 = 19.000	50
NH ₄ NO ₃	1.650	1.650 x 10 = 16.500	50
CaCl ₂ .2H ₂ O	440	440 x 10 = 4.400	50
MgSO ₄ .7H ₂ O	370	370 x 10 = 3.700	50
KH ₂ PO ₄	170	170 x 10 = 1.700	50
Mikronutrien)			
MnSO ₄ .4H ₂ O	22,3	22,3 x 100 = 2.230	5
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6	8,6 x 100 = 860	5
H ₃ BO ₃	6,2	6,2 x 100 = 620	5
KI	0,83	0,83 x 100 = 83	5
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025	0,025 x 100 = 2,5	5
NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,25	0,25 x 100 = 25	5
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025	0,025 x 100 = 2,5	5
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8	27,8 x 10 = 278	50
NaEDTA.2H ₂ O	37,3	37,3 x 10 = 373	50
Vitamin			
Calcium pantotenat	1	1 x 10 = 10	12,5
Myo-inositol	100	100 x 10 = 1.000	12,5
Nicotinic acid	1	1 x 10 = 10	12,5
Piridoxin HCl	1	1 x 10 = 10	12,5
Thiamine HCl	1	1 x 10 = 10	12,5
Gula	30 g/l		
Agar	8 g/l		

Sumber : George dan Sherrington (1984) *cit* Hendaryono dan Wijayani (1994)

Lampiran 18. Gambar-gambar penelitian *A. annua* secara *in vitro* pada 31 HST



BON0



BON1



BON2



BON3



B1N0



B1N1



B1N2



B1N3

Lampiran (lanjutan)



B2N0



B2N1



B2N2



B2N3



B3N1



B3N2



B3N2



B3N3

Keterangan :

- B0N0 : BAP 0 ppm dan NAA 0 ppm
B0N1 : BAP 0 ppm dan NAA 0,25 ppm
B0N2 : BAP 0 ppm dan NAA 0,5 ppm
B0N3 : BAP 0 ppm dan NAA 1 ppm
B1N0 : BAP 1 ppm dan NAA 0 ppm
B1N1 : BAP 1 ppm dan NAA 0,25 ppm
B1N2 : BAP 1 ppm dan NAA 0,5 ppm
B1N3 : BAP 1 ppm dan NAA 1 ppm
B2N0 : BAP 2 ppm dan NAA 0 ppm
B2N1 : BAP 2 ppm dan NAA 0,25 ppm
B2N2 : BAP 2 ppm dan NAA 0,5 ppm
B2N3 : BAP 2 ppm dan NAA 1 ppm
B3N0 : BAP 3 ppm dan NAA 0 ppm
B3N1 : BAP 3 ppm dan NAA 0,25 ppm
B3N2 : BAP 3 ppm dan NAA 0,5 ppm
B3N3 : BAP 3 ppm dan NAA 1 ppm

Lampiran 19. Skoring warna tunas

Skoring 0 (warna tunas putih)



Skoring 1 (warna tunas kuning)



Skoring 2 (warna tunas hijau muda)



Skoring 3 (warna tunas hijau)

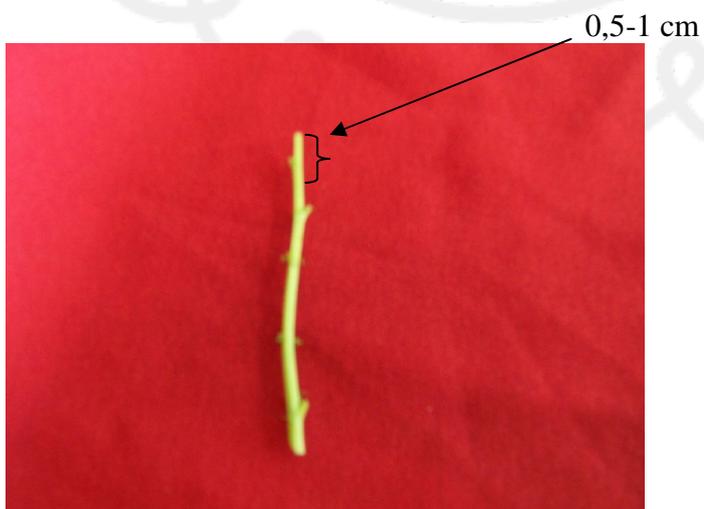


Skoring 4 (warna tunas hijau tua)

Lampiran 20. Foto *A. annua* sebagai tanaman obat



a. Foto tanaman *A. annua*



b. Eksplan yang digunakan pada kultur nodus tunggal batang *A. annua*

