

Pertumbuhan *Artemisia vulgaris* Secara Kultur Pucuk pada Medium dengan Kandungan Mioinositol dan Ekstrak Khamir

The Growth of *Artemisia vulgaris* by Shoot Culture on Medium with Mioinositol and Yeast Extract

Sri Kasmiyati^{1*}, Maria M. Herawati², Elizabeth B.E. Kristiani¹

¹Fakultas Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga
E-mail: kas@uksw.edu * Penulis untuk korespondensi

²Fakultas Pertanian Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga

Abstract

The effects of mioinositol and yeast extract were studied to assess their influence on growth of plantlets of *Artemisia vulgaris* by shoot culture. The plants regeneration of *A. vulgaris* were established by removing the nodes of stem and growing in MS multiplication medium with 1 ppm kinetin and 1 ppm NAA for 4 weeks. Shoots were induced for roots on MS treatment medium supplemented with mioinositol and yeast extract, added with 2 ppm IBA. Combination of four levels mioinositol concentration (mg/l): 100, 200, 300, and 400, and four levels of yeast extract concentration (mg/l): 0, 200, 300, and 400 were simultaneously added. Plantlets (2 weeks) were sub cultured on semi liquid MS medium. Plantlets were harvested on 6 weeks old. Measured parameters were fresh weight of plantlets. Data were analyzed using ANOVA followed by HSD test ($p=95\%$). The results showed that the treatment of mioinositol and yeast extract were not significantly influenced on fresh weight of plantlets. Yeast extract was not influenced the growth of plantlets. The growth and morphogenesis of plantlets *A. vulgaris* were induced in treatment 100 ppm mioinositol, and addition mioinositol were higher than 100 ppm not significantly influenced the growth of plantlets.

Key words: *Artemisia vulgaris*, shoots culture, mioinositol, yeast extract

Diterima: 09 Juli 2007, disetujui: 10 Desember 2007

Pendahuluan

Artemisia menjanjikan sebuah harapan baru sebagai alternatif obat malaria. *Artemisia* merupakan salah satu marga tumbuhan yang telah diekplorasi kegunaannya dalam dunia pengobatan terutama sebagai sumber artemisinin yang berupa senyawa sesquiterpen lakton endoperoksida dan berfungsi sebagai obat antimalaria. Tumbuhan *Artemisia* ini termasuk dalam suku Compositae dan memiliki sekitar 300 species berupa herba, terna atau semak (Ferreira dan Janick, 1996).

Di Indonesia dijumpai beberapa species *Artemisia* antara lain *A. annua*, *A. vulgaris*, *A. cina* dan *A. sacrorum*. Tempat tumbuh

Artemisia ini di daerah dingin seperti Tawangmangu dan Wamena Irian Jaya. Walaupun telah terbukti dapat tumbuh di Indonesia, tetapi hingga saat ini belum ada peneliti Indonesia yang secara intensif menggali potensi *Artemisia* sebagai sumber artemisinin. *A. vulgaris* sebagai salah satu species *Artemisia* yang dijumpai tumbuh di Indonesia, belum banyak diteliti kandungan artemisininnya dibandingkan *A. annua*, *A. cina* dan *A. sacrorum*. Padahal *A. vulgaris* berpotensi mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai sumber obat termasuk di antaranya artemisinin.

Dari sekitar 300 species *Artemisia*, baru beberapa species yang telah diidentifikasi mengandung artemisinin di antaranya *A. annua*, *A. opiacea*, *A. lancea* dan *A. cina* (Klayman, 1985; Klayman, 1993). Namun demikian tanaman dari marga *Artemisia* masih dianggap sebagai satu-satunya sumber artemisinin yang potensial. Penelitian ini dilatarbelakangi oleh adanya kesulitan dalam penyediaan artemisinin, karena selama ini tanaman yang secara serius digali potensinya sebagai sumber artemisinin hanya *A. annua* (Pras et al., 1991). Oleh karena itu, perlu dilakukan eksplorasi terhadap species *Artemisia* lainnya sebagai sumber potensial artemisinin, salah satunya adalah *A. vulgaris*.

Selain eksplorasi terhadap sumber artemisinin dari *A. vulgaris*, perlu pula dicari metode perbanyakan tanaman. Salah satu metode perbanyakan alternatif yang dapat dilakukan adalah melalui teknik kultur jaringan, karena dengan teknik kultur jaringan ini dapat dihasilkan bibit yang banyak dalam waktu yang relatif singkat, bibit bebas penyakit dan produksi bibit tidak tergantung musim. Selain itu, produksi senyawa metabolit sekunder yang bernilai tinggi dapat dimodifikasi.

Usaha untuk meningkatkan pertumbuhan *plantlet* melalui teknik kultur jaringan dapat dilakukan dengan cara memanipulasi komposisi medium, seperti mengubah konsentrasi unsur makro dan mikro, gula, vitamin dan senyawa organik lainnya juga dengan penambahan zat pengatur tumbuh. Mioinositol ditambahkan dalam medium kultur jaringan untuk memperbaiki pertumbuhan dan morfogenesis. Mioinositol merupakan gula alkohol yang penting dalam diferensiasi dan pembelahan sel (Winata, 1988). Senyawa organik lainnya yang dapat di tambahkan ke dalam medium kultur jaringan adalah ekstrak khamir. Penggunaan ekstrak khamir sebagai agen elisitasi bertujuan untuk meningkatkan kandungan metabolit sekunder. Penggunaan ekstrak khamir dilaporkan oleh Silalahi (1999) mampu meningkatkan kandungan ajmalisin dalam kultur kalus *Catharanthus roseus* secara nyata. Sudirga (2002) juga melaporkan peningkatan kandungan azadirachtin dari kultur suspensi sel *Azadirachta indica* setelah

diberi perlakuan elisitasi dengan ekstrak khamir.

Penelitian tentang perbanyakan *Artemisia* secara *in vitro* dengan kultur jaringan telah banyak dilakukan pada *A. annua* (Ferreira, 1996; Staba dan Martinez, 1988; Woerdenberg et al., 1993; Souret et al., 2003; De Jesus-Gonsales dan Weathers, 2003; Weathers et al., 2004; Putalun et al., 2007) dan *A. cina* (Aryanti, 2001), namun pada *A. vulgaris* masih belum banyak dilakukan. Berdasarkan latar belakang tersebut maka permasalahan yang akan dikaji dalam penelitian ini adalah apakah *A. vulgaris* yang ditumbuhkan secara kultur pucuk dan diberi perlakuan mioinositol dan agen elisitasi berupa ekstrak khamir dapat menghasilkan *plantlet* dengan pertumbuhan yang baik. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pertumbuhan *plantlet* *A. vulgaris* yang ditumbuhkan secara kultur pucuk dengan diberi mioinositol dan ekstrak khamir.

Metode Penelitian

Bahan yang dibutuhkan untuk penelitian meliputi eksplan dari ruas batang tanaman *A. vulgaris* yang sudah ditanam secara *in vitro*. Medium untuk perbanyakan pucuk digunakan medium Murashige dan Skoog (MS) ditambah kinetin 10 ppm dan NAA 1 ppm, sedangkan medium yang digunakan untuk induksi akar adalah medium MS ditambah IBA 2 ppm dan medium produksi berupa medium MS dengan ekstrak khamir 100, 200, 300, dan 400 mg/l, serta mioinositol dengan konsentrasi 100, 200, 300, dan 400 mg/l. Bahan kimia untuk sterilisasi alat dan eksplan, berupa akuades steril, alkohol 96%, larutan HgCl₂ dan deterjen.

Alat penelitian yang digunakan meliputi autoclave, lemari pendingin, timbangan analitik, Laminar airflow cabinet (LAF) yang dilengkapi dengan lampu UV, ruang inkubasi dengan AC, lampu, alat gelas, pipet, scalpel, pisau steril, aluminium foil, pH stick, dan oven.

Perbanyakan tanaman *A. vulgaris* dilakukan dengan menumbuhkan eksplan pada medium perbanyakan, tunas yang telah tumbuh disubkultur pada medium perbanyakan sampai jumlahnya cukup banyak sekitar 200 botol.

Tunas pucuk yang telah tumbuh diinduksi pertumbuhan akarnya dalam medium MS yang diberi perlakuan mioinositol dan ekstrak khamir ditambah IBA 2 ppm. Kombinasi perlakuan terdiri dari 4 aras konsentrasi mioinositol sebesar 100, 200, 300, dan 400 mg/l serta ekstrak khamir dengan 5 aras konsentrasi 0, 100, 200, 300, dan 400 mg/l diberikan bersama-sama dalam larutan medium MS.

Plantlet yang terbentuk (umur 2 minggu) disubkultur dalam medium perlakuan semi padat. *Plantlet* dipanen umur 6 minggu. Parameter yang diamati meliputi berat segar *plantlet*. Berat segar *plantlet* ditentukan dengan cara mengeluarkan *plantlet* dari botol yang berisi medium semi padat kemudian dibersihkan dan ditiriskan di atas kertas saring sambil dilap sampai airnya hilang selanjutnya langsung ditimbang berat segarnya. Data pengamatan dianalisis menggunakan analisis

sidik ragam dan diuji lanjut menggunakan HSD test taraf uji 5%.

Hasil dan Pembahasan

Pertumbuhan *plantlet*

Pertumbuhan tunas dari tanaman *A. vulgaris* yang ditumbuhkan secara kultur pucuk mulai dari eksplan berupa potongan ruas ujung batang sampai muncul banyak tunas terjadi kurang-lebih selama 4 minggu (Gambar 1). Eksplan ditumbuhkan pada medium perbanyakan berupa medium MS yang ditambah kinetin dan NAA. Satu minggu setelah penaburan pada medium, eksplan mulai menunjukkan respon berupa pembentukan jaringan semacam kalus pada ujung batang dan selanjutnya diikuti dengan pembentukan pucuk pada ketiak daun.



Gambar 1. Pertumbuhan tunas aksiler pada kultur pucuk dari ruas ujung batang *A. vulgaris* dalam medium MS+kinetin+NAA pada umur 4 minggu.



Gambar 2. Pertumbuhan *plantlet* setelah induksi akar dalam medium perlakuan (MS+mioinositol+ekstrak khamir+IBA) pada umur 2 minggu setelah sub kultur.

Pada tahap perbanyak tunas lebih lanjut, tunas-tunas yang tumbuh (umur 4 minggu) disub kultur pada medium yang sama (medium perbanyak) untuk memberikan zat makanan yang baru bagi eksplan serta untuk mengurangi pencoklatan medium atau eksplan.

Pada tahap perlakuan, tunas-tunas yang tumbuh pada medium perbanyak diinduksi perakaran dengan ditumbuhkan pada medium perlakuan (MS+mioinositol+ekstrak khamir+IBA). Pada tahap ini, perakaran muncul 2 minggu setelah sub kultur sehingga terbentuk *plantlet* (Gambar 2). *Plantlet* selanjutnya disubkultur ke dalam medium perlakuan semi padat. Pindahkan dimaksudkan agar pada saat dipanen tidak mengalami kerusakan.

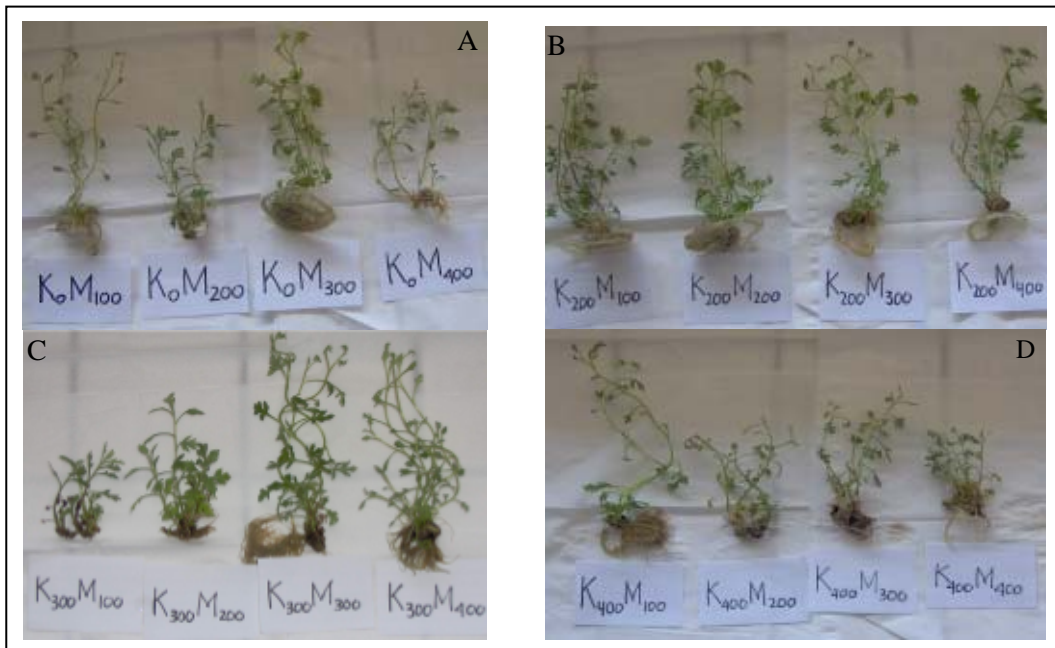
Plantlet setelah dipindah pada medium perlakuan semi padat menunjukkan peningkatan pertumbuhan yang cepat, hal ini disebabkan pada tahapan ini organ-organ vegetatif tanaman telah terbentuk secara lengkap (akar, batang, dan daun), sehingga penyerapan unsur hara dan nutrisi lain dari medium dapat berlangsung

dengan baik dan proses metabolisme seperti fotosintesis dapat berlangsung secara optimal.

Plantlet yang tumbuh dalam medium perlakuan semi padat setelah umur 6 minggu dipanen untuk ditentukan berat segarnya. *Plantlet* pada umur 6 minggu menunjukkan pertumbuhan yang dapat dikatakan sempurna dari segi morfogenesisnya karena telah terbentuk organ-organ seperti akar, batang, dan daun beserta tunas-tunasnya. Kondisi pertumbuhan *plantlet* untuk setiap perlakuan pada saat dipanen dapat dilihat pada Gambar 3.

Berat segar *plantlet*

Berat segar *plantlet* dipengaruhi oleh kadar air di dalam jaringan *plantlet*. Dari hasil analisis secara statistik pada Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak khamir dengan kadar 0, 200, 300, dan 400 mg/l memberikan pengaruh tidak beda nyata terhadap berat segar *plantlet*.



Gambar 3. Morfologi *plantlet* setelah dipanen (6 minggu setelah dikulturkan dalam medium perlakuan semi padat), A. perlakuan tanpa ekstrak khamir (K0) B. perlakuan ekstrak khamir 200 mg/l (K200) C. perlakuan ekstrak khamir 300 mg/l (K300) D. perlakuan ekstrak khamir 400 mg/l (K400)

Dalam Tabel 1 terlihat adanya peningkatan berat segar sejalan dengan penambahan konsentrasi ekstrak khamir sampai 300 mg/l, karena nilai peningkatannya kecil sehingga secara statistik tidak menunjukkan beda nyata. Peningkatan berat segar *plantlet* akibat perlakuan ekstrak khamir, tidak terlihat nyata karena sebenarnya pemberian ekstrak khamir lebih bersifat sebagai elisitor biotik yang berperan dalam menginduksi metabolit sekunder dibanding sebagai pemacu pertumbuhan *plantlet* sehingga keberadaan ekstrak khamir tersebut cenderung tidak mempengaruhi pertumbuhan *plantlet*. Menurut Salisbury dan Ross (1995), elisitor mampu mengadakan elisitasi untuk menginduksi jalur metabolisme sekunder secara *in vitro*. Beberapa elisitor merupakan polisakarida yang dihasilkan bila fungi atau bakteri patogenik menyerang dinding sel tumbuhan. Produksi metabolit sekunder dapat lebih ditingkatkan dengan penambahan elisitor dalam suatu kultur. Elisitor berasal materi dinding sel mikroba, berupa derivat senyawa oligosakarida misalnya glukukan, manan dan manosa, telah banyak digunakan dan terbukti dapat meningkatkan kandungan metabolit sekunder (Di Cosmo dan Misawa, 1995). Penelitian yang dilakukan oleh Eilert *et al.*, (1986) menunjukkan bahwa elisitor terbaik yang digunakan untuk meningkatkan kandungan ajmalisin adalah

jamur *Pythium aphanidermatum*. Elisitasi menggunakan homogenat *P. aphanidermatum* ternyata dapat meningkatkan kandungan ajmalisin sebesar 66,4% pada kultur kalus *C. roseus* (Fitriani, 1988), kultur kalus berakar yang dielisitasi dengan homogenat *P. aphanidermatum* mengalami peningkatan kandungan ajmalisin sebesar 148,9% pada konsentrasi elisitor 1 mg BK/mL (Aprianita, 1999).

Penambahan mioinositol ke dalam medium kultur jaringan dimaksudkan untuk memperbaiki pertumbuhan dan morfogenesis dari eksplan yang ditanam. Dari hasil analisis statistik pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pemberian mioinositol pada kadar di atas 100 mg/l, yaitu 200, 300, dan 400 mg/l memberikan pengaruh yang tidak beda nyata terhadap berat segar *plantlet*.

Namun demikian, perlakuan mioinositol sampai konsentrasi 300 mg/l menunjukkan adanya kecenderungan penambahan berat segar *plantlet* (Tabel 1). Menurut George dan Sherrington (1984), mioinositol yang diberikan dalam medium kultur jaringan berfungsi membantu diferensiasi dan pertumbuhan jaringan. Mioinositol merupakan perantara pada perubahan glukosa menjadi asam galaturonat yang merupakan prekursor pektin untuk menyusun dinding sel.

Tabel 1. Berat segar *plantlet A. vulgaris* pada perlakuan ekstrak khamir dan perlakuan mioinositol

Perlakuan	Konsentrasi Perlakuan (mg/L)	Berat Segar (g)
Khamir	0	1.0463 a
	200	1.1303 a
	300	1.1106 a
	400	0.856 a
Mioinositol	100	0.9796 a
	200	0.8610 a
	300	1.3833 a
	400	0.9193 a

Kesimpulan

Perbanyakkan *A. vulgaris* dapat dilakukan secara *in vitro* melalui kultur pucuk. Penambahan ekstrak khamir dan mioinositol

dalam medium pertumbuhan mempengaruhi pertumbuhan *plantlet A. vulgaris*. Perlakuan ekstrak khamir sebesar 200 mg/L dan mioinositol sebesar 300 memberikan hasil berat segar *plantlet* paling besar.

Daftar Pustaka

- Aprianita. 1999. Pengaruh Pemberian Homogenat Jamur *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. terhadap Kandungan Ajmalisin dalam Kultur Kalus Berakar *C. roseus* (L.) G. Don. *Tesis* Jurusan Biologi, Institut Teknologi Bandung.
- Aryanti. 2001. Variasi Kandungan Artemisinin dari Akar Rambut dan Regenerasi *Artemisia cina* Berg ex Poljakov sebagai Anti Kanker, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- De Jesus-Gonzalez, L. and Weathers, P.J. 2003. Tetraploid *Artemisia annua* Hairy Roots Produce More Artemisinin than Diploids. *Plant Cell Rep.* 21 (8): 809-13.
- Di Cosmo, F. and Misawa, M. 1995. Plant Cell and Tissue Culture: Alternatives for Metabolites Production. *Biotechnology Advances* 3: 425-453.
- Eilert, U., Constable, F. and Kurz, W.G.W. 1986. Elicitor Stimulation of Monoterpene Indole Alkaloid Formation in Suspension Cultures of *Catharanthus roseus*. *J. Plant Phys.* 126: 11-22.
- Ferreira, J.F.S. and Janick, J. 1996. Distribution of *Artemisia annua*, Progress in New Crops, pp 579-584.
- Ferreira, J.F.S. 1996. Root as Enhancing Factor of The Production of Artemisinin Shoot Culture of *Artemisia annua*, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 44: 211-217.
- Fitriani, A. 1988. Pengaruh Pemberian Homogenat Jamur *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. terhadap Kandungan Ajmalisin dalam Kultur Kalus *Catharanthus roseus* (L) G. Don. *Tesis* Jurusan Biologi, Institut Teknologi Bandung.
- George and Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture.
- Gunawan, L.W. 1988. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan PAU – Institut Pertanian Bogor, Bogor. 124
- Klayman, D.L. 1985. Qinghaosu (*Artemisinin*): An Antimalarial Drug from China, *Science* 228: 1049-1055.
- Klayman, D.L. 1993. *Artemisia annua* from Weed to Respectable Anti Malarial Plant. In: Kinghorn, A.D. & Ballandrin, M.F. (Eds.). *Human Medicinal Agents from Plant.* American Chemical Society Washington, DC. 244.
- Pras, N., Visser, J.F., Batterman, S., Woerdenbag, H.J. and Malingre, T. 1991. Laboratory Selection of *Artemisia annua* L. for High Artemisinin Yielding Types, *Phytochemical Analysis* 2: 80-83.
- Putalun, W., Luealon, W., De-Eknamkul, W., Tanaka, H. and Shoyama, Y. 2007. Improvement of Artemisinin Production by Chitosan in Hairy Root Cultures of *Artemisia annua* L. *Biotechnol Lett.* 29 (7): 1143-6.
- Silalahi, M. 1999. Pengaruh Pemberian Elisitor Ekstrak Ragi (*Saccharomyces cerevisiae* Hansen) terhadap Kandungan Ajmalisin pada Kultur Kalus *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Tesis*, Jurusan Biologi, Institut Teknologi Bandung.
- Souret, F.F., Kim, Y., Wysiouzil, B.E., Wobbe, K.K. and Weathers, P.J. 2003. Scale-up of *Artemisia annua* L. Hairy Root Cultures Produces Complex Patterns of Terpenoid Gene Expression. *Biotechnology Bioengineering* 83: 653-667.
- Staba, J.B. and Martinez, B. 1988. The Production of Artemisinin in *Artemisia annua* L. Tissue Culture Advances in Cell Culture 6: 69-87.
- Sudirga, S.K. 2002. Peningkatan Kandungan Azadirachtin dalam Kultur Suspensi Sel *Azadirachta indica* A. Juss Melalui Elisitasi dengan Ekstrak Ragi (*Saccharomyces cerevisiae* Hansen). *Tesis*, Jurusan Biologi, Institut Teknologi Bandung.
- Weathers, P.J., DeJesus-Gonzalez, L., Kim, Y.J., Souret, F.F. and Towler, M.J. 2004. Alteration of Biomass and Artemisinin Production in *Artemisia annua* Hairy Roots by Media Sterilization Method and Sugars. *Plant Cell Rep.* 23 (6): 414-8.
- Winata, L. 1988. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*, Lab. Kultur Jaringan Tumbuhan Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Woerdenberg, H.J., luers, Uden, W., Pras, N., Malingre, T.M. and Alferman. 1993. Production of The New Antimalarial Drug Artemisinin in Shoot Culture of *Artemisia annua*, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.*