
REGENERASI EKSPLAN *Artemisia annua* L. SECARA *IN VITRO* DENGAN PERLAKUAN SITOKININ DAN AIR KELAPA

Isnaini Nitasari¹, Farida Yuliani², dan Shodiq Eko Ariyanto³

¹²³ Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muria Kudus

Email: farida.yuliani@umk.ac.id

Info Artikel

Sejarah Artikel:

Diterima 15 Juni 2023

Direvisi 20 Juni 2023

Disetujui 27 Juni 2023

Keywords:

cytokinins, coconut water, *A annua*

Abstrak

Biji *Artemisia annua* L mempunyai viabilitas sangat rendah sehingga perbanyak tanaman *A. annua* dapat dilakukan secara vegetatif melalui kultur *in vitro*. Salah satu permasalahan untuk meningkatkan regenerasi *A. annua* dalam kultur *in vitro* yaitu penggunaan jenis ZPT alami maupun sintetik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh sitokinin dan air kelapa terhadap regenerasi eksplan *A. annua*. Penelitian dilaksanakan bulan Agustus - Oktober 2022 di Laboratorium Kultur Jaringan Universitas Muria Kudus. Penelitian menggunakan metode percobaan observatif dan faktorial yang terdiri dari dua faktor dengan 3 kali ulangan, Percobaan disusun dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Faktor pertama adalah sitokinin yang terdiri dari empat taraf yaitu: kinetin 0,5 ppm (S1), kinetin 1 ppm (S2), BAP 0,5 ppm (S3), BAP 1 ppm (S4) Faktor kedua adalah air kelapa yang terdiri dari dua taraf yaitu: tanpa penggunaan air kelapa (Ak0) dan air kelapa 10% (Ak1). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan sitokinin dan air kelapa berpengaruh nyata terhadap waktu muncul kalus, diameter kalus, bobot kalus dan jumlah tunas eksplan *A. annua*. Sitokinin jenis BAP dengan konsentrasi 0,5 ppm menunjukkan hasil tertinggi. Terjadi interaksi nyata antara sitokinin dan air kelapa terhadap waktu muncul kalus dan bobot kalus eksplan *A. annua*.

Abstract

Artemisia annua L seeds have very low viability so that *A. annua* plant propagation can be done vegetatively through *in vitro* culture. One of the problems to increase the regeneration of *A. annua* in *in vitro* culture is the use of natural and synthetic ZPT types. The research which aims to determine the effect of the cytokinins and coconut water on the regeneration of *A. annua* explants had been carried out in August - September 2022 at the Tissue Culture Laboratory of Muria Kudus University. The research used observational and factorial experimental methods consisting of two factors with 3 replications. The experiment was arranged in a completely randomized design (CRD). The first factor is cytokinin which consists of four levels, namely: kinetin 0.5 ppm (S1), kinetin 1 ppm (S2), BAP 0.5 ppm (S3), BAP 1 ppm (S4) The second factor is coconut water which consists of two levels, namely: without the use of coconut water (Ak0) and 10% coconut water (Ak1). The results showed that cytokinins and coconut water significantly affected the time of callus appearance, callus diameter, callus weight and number of shoots of *A. annua* explants. BAP type cytokinins with a concentration of 0.5 ppm showed the highest results. There was a significant interaction between cytokinins and coconut water on callus appearance time and callus weight of *A. annua* explants.

PENDAHULUAN

Artemisia annua L merupakan tanaman herbal yang terus dikembangkan untuk mengatasi *Plasmodium falciparum* penyebab penyakit malaria. Berbagai upaya terus dilakukan untuk meningkatkan kandungan artemisinin pada *A. annua* dengan cara budidaya yang efektif atau perbaikan genetik tanaman sehingga dapat meningkatkan biomassa tanaman sekaligus meningkatkan kandungan metabolit sekundernya (Ermayanti *et al*, 2016).

Perbanyak tanaman *A. annua* dapat dilakukan secara generatif melalui biji dan secara vegetatif dengan setek maupun kultur *in vitro*. Namun biji mempunyai viabilitas yang sangat rendah, tidak mempunyai massa dormansi dan selalu menyerbuk silang sehingga kadar metabolit *A. annua* bisa berbeda antara aksesi satu dengan aksesi yang lain (Dwi, 2015). Keterbatasan bahan tanam *A. annua* menyebabkan para peneliti yang menggunakan tanaman tersebut sebagai objek penelitian mengalami kesulitan, sehingga perlu dicari metode pembiakan lain untuk mendapatkan bibit yang berkualitas dan seragam.

Salah satu metode yang digunakan adalah teknik kultur *in vitro*. Kultur *in vitro* merupakan salah satu teknik budidaya menggunakan media dalam kondisi aseptik dengan cara mengisolasi bagian tanaman, seperti sel, sekelompok sel, jaringan atau organ pada media tersebut untuk dijadikan anakan baru (planlet) (Pebriyani *et al*, 2020). Melalui teknik kultur *in vitro*, tanaman *A. annua* dapat diproduksi dalam jumlah yang banyak dan seragam. Teknik ini memungkinkan manipulasi sel dan molekul untuk memperbaiki sifat tanaman serta mempertinggi produksi dan kualitasnya dengan cara menumbuhkan eksplan daun tanaman *A. annua* pada media Murashige and Skoog (MS) yang diperkaya berbagai vitamin dan ZPT untuk merangsang pertumbuhan tanaman tersebut.

ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) merupakan senyawa organik bukan nutrisi tanaman, yang bekerja dalam konsentrasi rendah dan dapat menghambat atau merubah pertumbuhan serta perkembangan tanaman secara kuantitatif maupun kualitatif (Efferth, 2017). Salah satu ZPT yang banyak digunakan untuk regenerasi tanaman *A. annua* adalah sitokinin. Sitokinin merupakan ZPT yang mempunyai aktivitas utama mendorong pembelahan sel (*sitokinesis*) dan morfogenesis. Biasanya digunakan untuk merangsang terbentuknya tunas (Herawati, 2016). Jenis – jenis ZPT sitokinin yaitu BA (*Benziladenine*), BAP (*Benzylamino purine*),

kinetin (*6-furfurylaminopurine*) 2-iP (*Isopentenyladenine*), zeatin dan thidiazuron (Wikipedia, 2021).

Selain ZPT sintetik, dalam pemanfaatan media kultur jaringan sering digunakan ZPT dari bahan alami seperti air kelapa, ekstrak bawang merah, buncis, tauge dan pisang. Penambahan ZPT alami digunakan sebagai alternatif pengganti ZPT sintetik karena mudah didapatkan dan harganya terjangkau (Emilda, 2020). Sauji (2018) menyatakan, kandungan air kelapa antara lain : Asam amino, Asam organik *citric*, *dihydroxyphenylalanin*, dan *succinic*. Selain itu air kelapa juga memiliki kandungan gula yang kompleks, seperti : sukrosa, glukosa, fruktosa, manitol, sorbitol dan myo-inositol, vitamin-vitamin dan beberapa substansi pertumbuhan seperti auksin, giberelin, zeatin, zeatin *glucosid* dan zeatin ribosid.

Penambahan ZPT alami mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman dalam kultur jaringan. Ariyanti *et al* (2021) melakukan penelitian pada tanaman vanili (*Vanilla planifolia*) menggunakan media MS dengan perlakuan yang berbeda (MS+0% air kelapa dan MS+15% air kelapa) secara *in vitro*. Berdasarkan analisis statistika Uji-T menunjukkan hasil berbeda sangat nyata dan mampu meningkatkan hasil tanaman, mulai dari kalus, tunas hingga akar.

Indriani *et al*, (2014) melakukan penelitian terhadap tanaman krisan (*Crysanthemum indicum* L) menggunakan ZPT BA dan air kelapa secara *in vitro*. Hasil interaksi antara BA dan air kelapa menunjukkan respon signifikan terhadap tinggi tunas, jumlah tunas dan jumlah daun bunga. Hal ini menunjukkan penambahan BA dan air kelapa yang dikombinasikan dalam media mampu mempengaruhi pertumbuhan tanaman krisan secara *in vitro*.

Berdasarkan uraian di atas, akan dilakukan penelitian dengan judul “Regenerasi Eksplan *Artemisia annua* L secara *In Vitro* dengan Perlakuan Sitokinin dan Air Kelapa.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – Oktober 2022 di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Muria Kudus Kecamatan Bae Kabupaten Kudus Jawa Tengah.

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol tanam, autoklaf, gelas piala 2000 ml, gelas piala 1000 ml, gelas ukur 100 ml, Ph-meter, hotplate *magnetic stirer*, spatula/pengaduk, cawan petridish, karet gelang,

plastik, pipet, gunting, aluminium foil, bunsen, gagang pisau, mata pisau, pinset, botol selai panjang, botol selai pendek, *hand spray*, baki, *plastic wrap*, LAF (*Laminar Air Flow*) dan kamera.

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan pucuk daun *A. Annua*, ZPT (Kinetin dan BAP), air kelapa 10%, alkohol 75%, klorok 50%, aquades steril, HCL, NaOH, spirtus, aquades dan alkohol 70% dan alkohol 96%.

Penelitian dilakukan menggunakan metode percobaan observatif dan faktorial. Adapun metode percobaan faktorial menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor yaitu jenis sitokinin dan air kelapa.

Faktor pertama yaitu jenis sitokinin dengan taraf konsentrasi sebagai berikut:

S₁ : MS + kinetin 0,5 ppm

S₂ : MS + kinetin 1 ppm

S₃ : MS + BAP 0,5 ppm

S₄ : MS + BAP 1 ppm

Faktor kedua yaitu air kelapa dengan taraf konsentrasi sebagai berikut :

Ak₀ : tanpa air kelapa

Ak₁ : air kelapa 10%

Sehingga diperoleh 8 kombinasi perlakuan sebagai berikut :

S₁Ak₀ : Kinetin 0,5 ppm

S₂Ak₀ : Kinetin 1 ppm

S₃Ak₀ : BAP 0,5 ppm

S₄Ak₀ : BAP 1 ppm

S₁Ak₁ : Kinetin 0,5 ppm + air kelapa 10%

S₂Ak₁ : Kinetin 1 ppm + air kelapa 10%

S₃Ak₁ : BAP 0,5 ppm + air kelapa 10%

S₄Ak₁ : BAP 1 ppm + air kelapa 10%

Pelaksanaan penelitian terdiri dari beberapa tahapan yaitu sterilisasi alat, pembuatan larutan stok, pembuatan media tanam, sterilisasi eksplan, penanaman, sub kultur dan pemeliharaan. Parameter pengamatan yang diamati meliputi waktu muncul kalus, diameter kalus, bobot kalus, warna kalus, tekstur kalus dan jumlah tunas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu muncul kalus

Eksplan daun *A. annua* yang telah ditanam pada media perlakuan mulai membentuk kalus pada 3 HST. Daun mulai menggulung dan terbentuknya tonjolan di sekitar bekas luka potongan pada eksplan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan kinetin meningkatkan pembentukan kalus lebih awal dibanding dengan perlakuan BAP.

Berdasarkan hasil sidik ragam perlakuan sitokinin (S) dan air kelapa (Ak) berpengaruh sangat nyata terhadap waktu muncul kalus eksplan *A. annua*. Terdapat interaksi sangat nyata antara perlakuan sitokinin dan air kelapa terhadap waktu muncul kalus. Perlakuan sitokinin dan air kelapa terhadap waktu muncul kalus terdapat pada Tabel 4.1.

Hasil penelitian menunjukkan waktu muncul kalus tercepat diperoleh dari perlakuan kinetin 1 ppm (S₂) dan tanpa air kelapa (Ak₀) dengan hasil 3,17 hari dan 4,08 hari serta berbeda nyata dengan kinetin 0,5 ppm (S₁) dan BAP 1 ppm (S₄), sedangkan waktu muncul kalus terlama diperoleh dari perlakuan BAP 0,5 ppm (S₃) dan air kelapa 10% dengan hasil 6,33 hari dan 5,42 hari. Kombinasi perlakuan antara sitokinin dan air kelapa yang tersaji pada tabel 4.1 memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap waktu muncul kalus. Waktu muncul kalus tercepat diperoleh dari perlakuan kinetin 0,5 ppm (S₁Ak₀) dan kinetin 1 ppm (S₂Ak₀) dengan hasil yang sama yaitu 3,00 hari, hal ini berbeda nyata dengan kinetin 0,5 ppm + air kelapa 10% (S₁Ak₁) dan kinetin 1 ppm + air kelapa 10% (S₂Ak₁). Penambahan air kelapa mengakibatkan waktu muncul kalus pada eksplan *A. annua* semakin lama.

Diameter kalus

Berdasarkan hasil sidik ragam perlakuan sitokinin (S) dan air kelapa (Ak) berpengaruh sangat nyata terhadap diameter kalus eksplan *A. annua*. Tidak terjadi interaksi nyata antara perlakuan sitokinin dan air kelapa terhadap diameter kalus

Hasil penelitian menunjukkan hasil terbaik pada perlakuan sitokinin (S) diperoleh dari perlakuan BAP 1 ppm (S₄) dengan hasil 2,25 cm. Hal ini berbeda nyata dengan kinetin 0,5 ppm (S₁) dan kinetin 1 ppm (S₂) dan berbeda nyata dengan BAP 0,5 ppm (S₃). Sedangkan hasil terbaik pada perlakuan air kelapa (Ak) diperoleh dari perlakuan air kelapa 10% (Ak₁) dengan hasil 1,46 cm, hal ini berbeda nyata dengan perlakuan tanpa air kelapa (Ak₀).

Bobot kalus

Berdasarkan hasil sidik ragam perlakuan sitokinin (S) dan air kelapa (Ak) berpengaruh sangat nyata terhadap bobot kalus eksplan *A. annua*. Terdapat interaksi nyata antara

perlakuan sitokinin dan air kelapa terhadap bobot kalus.

Hasil penelitian menunjukkan hasil terbaik pada perlakuan sitokinin (S) diperoleh dari perlakuan BAP 1 ppm (S4) dengan hasil rata – rata 6,54 gram dan berbeda nyata dengan BAP 0,5 ppm (S3) dengan hasil 5,64 gram. Hal ini berbeda nyata dengan kinetin 0,5 ppm (S1) dan kinetin 1 ppm (S2). Sedangkan hasil terbaik pada perlakuan air kelapa (Ak) diperoleh dari perlakuan air kelapa 10 % (Ak1) dengan rata-

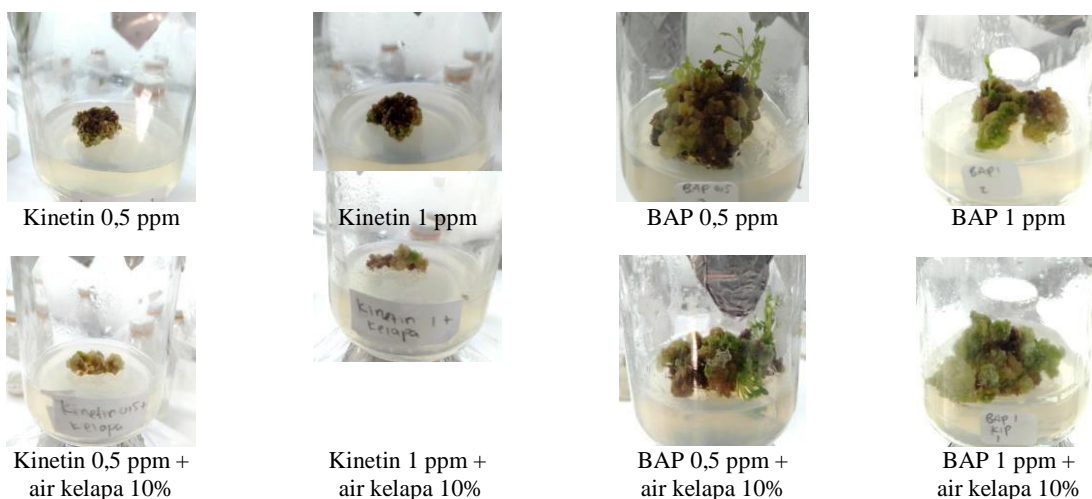
rata 4,15 gram, hal ini berbeda nyata dengan perlakuan tanpa air kelapa 10% (Ak0) dengan hasil rata-rata 3,57 gram.

Kombinasi perlakuan sitokinin dan air kelapa memberikan pengaruh yang nyata terhadap bobot kalus. Bobot kalus tertinggi diperoleh dari perlakuan BAP 1 ppm + air kelapa 10% (S4Ak1) dengan hasil 6,88 gram dan terendah dari perlakuan kinetin 0,5 ppm (S1Ak0) dan kinetin 0,5 ppm + air kelapa 10% (S1Ak1) dengan hasil 1,05 dan 1,18 gram.

Tabel 1 Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sitokinin serta Air Kelapa terhadap Waktu Muncul Kalus (hari), Diameter Kalus (cm) dan Bobot Kalus (gram).

Perlakuan	Waktu Muncul Kalus (hari)	Diameter Kalus (cm)	Bobot Kalus (gram)
Jenis dan Konsentrasi Sitokinin (ppm)			
S1 (Kinetin 0,5)	3,50 c	0,70 c	1,68 c
S2 (Kinetin 1)	3,17 c	0,63 c	1,44 c
S3 (BAP 0,5)	6,33 a	1,77 a	5,79 b
S4 (BAP 1)	6,00 b	2,25 b	6,54 a
Konsentrasi Air Kelapa (%)			
Ak0 (tanpa air kelapa)	4,08 e	1,22 e	3,57 d
Ak1 (air kelapa 10%)	5,42 d	1,46 d	4,15 e
Kombinasi Perlakuan			
S1AK0	3,00 i	0,53 f	1,05 i
S2AK0	3,00 i	0,53 f	1,18 i
S3AK0	5,33 g	1,67 f	5,86 g
S4AK0	5,00 g	2,13 f	6,20 g
S1AK1	4,00 h	0,87 f	2,32 h
S2AK1	3,33 h	0,73 f	1,70 h
S3AK1	7,33 f	1,87 f	5,72 g
S4AK1	7,00 f	2,37 f	6,88 f

Keterangan: angka yang diikuti huruf sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.



Gambar 1 Hasil penelitian Eksplan *A. annua* secara *In Vitro* sebelum Subkultur (40 HST).

Warna kalus

Warna kalus merupakan salah satu indikator untuk mengetahui kondisi kalus. Kalus yang baik merupakan kalus yang berwarna hijau, yang menunjukkan adanya kandungan klorofil untuk fotosintesis.

Hasil penelitian menunjukkan semua kalus berwarna hijau keputihan pada perlakuan BAP 0,5 ppm (S3Ak0), BAP 1 ppm (S4Ak0), BAP 0,5 ppm + air kelapa 10% (S3Ak1) dan BAP 1 ppm + air kelapa 10% (S4Ak1). Sedangkan pada perlakuan kinetin, eksplan *A. annua* lebih cepat merespon ZPT dan lebih cepat membentuk kalus. Eksplan *A. annua* yang beregenerasi lebih cepat menyebabkan nutrisi pada media perlakuan lebih cepat habis, kondisi tersebut memicu stres dan meningkatkan produksi fenol sehingga kalus pada perlakuan kinetin mengalami pencoklatan (*browning*). Fenol yang mengalami oksidasi menjadi quinon dan senyawa lain yang beracun bagi sel mengakibatkan terjadinya kecoklatan (Li *et al*, 2016). Lutfiah & Habibah (2022) menambahkan bahwa dalam kondisi normal, enzim dan substrat berada diruang yang berbeda dalam sel akan keluar bersama ketika sel rusak. Perubahan permeabilitas membran menyebabkan pelepasan enzim dan substrat pada sitosol dapat memicu pencoklatan.

Tekstur kalus

Terdapat dua jenis tekstur kalus, yaitu kompak (tidak gembur) dan remah (*friable*). Kalus kompak merupakan kalus yang bertekstur padat dan keras, tersusun dari sel-sel kecil yang sangat rapat dan mengandung cukup banyak air (Sitorus *et al.*, 2011). Sedangkan kalus remah menurut Nuha (2022) merupakan kalus bertekstur lunak dan tersusun dari sel-sel dengan ruang antar sel yang banyak, tumbuh terpisah – pisah, mudah lepas dan mengandung banyak air.

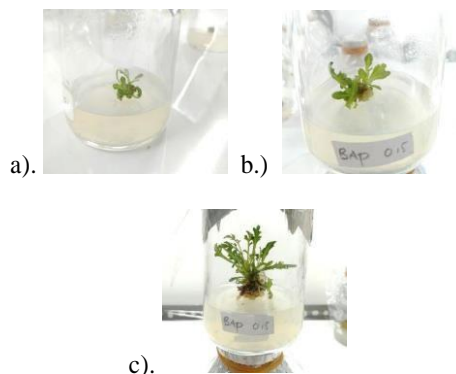
(Gambar 1) menunjukkan bahwa semua kalus bertekstur remah pada perlakuan BAP 0,5 ppm (S3Ak0), BAP 1 ppm (S4Ak0), BAP 0,5 ppm + air kelapa 10% (S3Ak1) dan BAP 1 ppm + air kelapa 10% (S4Ak1). Sedangkan kalus bertekstur kompak terdapat pada perlakuan kinetin, kondisi ini menunjukkan bahwa kalus *A. annua* tidak dapat berkembang menjadi tunas pada konsentrasi kinetin yang diperlakukan. Menurut (Yelnititis, 2012), kalus remah yang terbentuk secara tidak langsung dapat dilakukan dengan cara subkultur.

Jumlah tunas

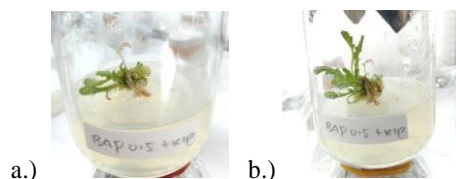
Menurut Rahardja & Wiryanta (2003), jumlah tunas merupakan indikator utama untuk

mengetahui keberhasilan regenerasi eksplan *A. annua*. Semakin banyak tunas yang terbentuk pada eksplan, maka semakin tinggi tingkat keberhasilan kultur jaringan suatu tanaman (Fitriani, 2008).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tunas mulai tumbuh pada perlakuan BAP 0,5 ppm (S3Ak0), BAP 1 ppm (S4Ak0) dan BAP 0,5 ppm + air kelapa 10% (S3Ak1) pada 19 HST, 23 HST dan 17 HST. Kalus yang tidak tumbuh menjadi tunas kemudian mulai menguning dan mengalami pencoklatan. Sedangkan pada perlakuan kinetin dan BAP 1 ppm + air kelapa 10% tunas tidak dapat tumbuh. Pertumbuhan tunas dapat dipengaruhi oleh adanya kombinasi dan keseimbangan antara ZPT eksogen yang diberikan pada media kultur serta kandungan hormon endogen yang ada di dalam jaringan tanaman (Nuha, 2022). Jumlah tunas tertinggi dihasilkan pada perlakuan BAP 0,5 ppm (S3Ak0) dengan hasil 8 tunas. Sedangkan pada perlakuan BAP 1 ppm (S4Ak0) dan BAP 0,5 ppm + air kelapa 10% (S3Ak1) menghasilkan tunas lebih sedikit yaitu 1 dan 4 tunas. Untuk perbanyak tunas kemudian dilakukan subkultur pada media perlakuan, dengan mensubkultur kalus dan tunas yang berwarna hijau. Subkultur merupakan pemindahan kultur kedalam media baru untuk tujuan tertentu seperti media kultur yang sudah habis, multikplikasi dan induksi tunas atau akar (Dwiyani, 2015).



Gambar 2 Perkembangan Tunas pada Perlakuan BAP 0,5 ppm pada 18 (a), 25 (b) dan 43 HSS (c).



Gambar 3 Perkembangan Tunas pada Perlakuan BAP 0,5 ppm + air kelapa 10% pada 25 (a) dan 43 HSS (b)

Hasil subkultur menunjukkan bahwa kalus dan tunas pada media kinetin tidak dapat berkembang dan mengalami pencoklatan (*Browning*). Kalus pada media BAP 1 ppm (S4Ak0) hanya mengalami pembesaran, sedangkan tunas pada media BAP 1 ppm + air kelapa 10% (S4Ak1) mengalami dediferensiasi membentuk kalus. Tunas dapat berkembang pada media BAP 0,5 ppm (S3Ak0) dan BAP 0,5 ppm + air kelapa 10% (S3Ak1), dan menghasilkan tunas berjumlah 15 dan 8 tunas. Hasil perkembangan tunas pada media BAP 0,5 ppm dan BAP 0,5 ppm + air kelapa 10% terdapat pada (Gambar 2) dan (Gambar 3).

Pengaruh sitokinin terhadap regenerasi eksplan *A. annua*

Eksplan *A. annua* yang dikulturkan secara *in vitro* dapat membentuk berbagai macam primordia, dimana dalam proses perkembangannya akan menuju proses pembentukan organ tanaman. Menurut Hapsoro & Yusnita (2018) ketika eksplan *A. annua* dikulturkan pada media tertentu akan mengalami dediferensiasi membentuk kalus dimana sel – sel kalus terbentuk setelah pelukaan jaringan tanaman.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa potongan daun *A. annua* yang dikulturkan pada media perlakuan kinetin memberikan respon tercepat dalam pembentukan kalus pada 3 HST sedangkan pada media BAP kalus terbentuk lebih lama yaitu pada 6 HST. Kalus terus mengalami pembesaran, namun pada 14 HST kalus pada media kinetin mengalami pencoklatan, bertekstur padat dan berukuran kecil. Sedangkan kalus pada media BAP berwarna hijau, berukuran lebih besar dan bertekstur remah. Pada 17 HST kalus pada media kinetin mengalami pencoklatan lebih pekat dan tidak mengalami pembesaran, sedangkan kalus pada media BAP bertekstur remah dan bertambah besar, selain itu mulai muncul tunas pada BAP 0,5 ppm dan BAP 1 ppm pada 17 HST dan 23 HST. Tunas tumbuh pada permukaan kalus yang hijau, karena mengandung lebih banyak klorofil sehingga membantu proses fotosintesis pada *A. annua* yang dikulturkan. Tunas terus berkembang pada media BAP 0,5 ppm, sedangkan pada media BAP 1 ppm hanya memunculkan 1 tunas. Pada 40 HST, kalus mengalami pencoklatan. Tanaman yang dikulturkan secara *in vitro* tidak dapat bertahan dalam waktu yang lama karena tanaman tersebut terus berkembang sehingga nutrisi pada media buatan yang digunakan cepat habis. Menurut Dwiyani (2015), proses tanaman pada kultur jaringan akan berhasil ketika tanaman pada media kultur terus dilakukan sub kultur untuk

membentuk suatu eksplan sesuai dengan yang diinginkan.

Hasil sub kultur pada (Gambar 2) dan (Gambar 3) menunjukkan bahwa regenerasi eksplan *A. annua* terbaik pada pemberian BAP 0,5 ppm (S3) karena mampu menghasilkan tunas. Sedangkan kalus pada perlakuan kinetin mengalami pencoklatan dan tidak dapat berkembang membentuk tunas. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Fitriani (2008) bahwa penggunaan sitokinin jenis BAP berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas pada kultur tunas *A. annua* secara *in vitro*. Zayova *et al.*, (2020) juga menambahkan BAP kedalam media kultur *A. annua* untuk memperbanyak jumlah tunas. Frekuensi pembentukan tunas pada penelitian zayova mencapai 85%. BAP merupakan senyawa turunan *adenine* yang berperan dalam merangsang sel dorman dan metabolisme sel (Karjadi & Buchory, 2008). Hal ini juga dijelaskan oleh Indriani *et al.*, (2014) bahwa semakin tinggi konsentrasi kinetin laju regenerasi tanaman *C. indicum* semakin menurun. Penggunaan ZPT dalam kultur *in vitro* pada batas

– batas tertentu mampu merangsang pertumbuhan, namun dapat bersifat penghambat apabila digunakan melebihi konsentrasi optimum (Manningolung *et al.*, 2018). Menurut Ni'mah (2018) penggunaan BAP dalam kultur jaringan sering digunakan untuk merangsang pembentukan tunas karena memiliki efektifitas tinggi, bersifat lebih stabil dan tahan terhadap oksidasi diantara sitokinin lainnya. Selain itu, BAP tidak mudah terurai oleh enzim yang dikeluarkan sel tanaman atau rusak akibat pemanasan pada proses sterilisasi (Rahman, 2020).

Pengaruh air kelapa terhadap regenerasi eksplan *A. annua*

Penambahan air kelapa dengan konsentrasi yang tepat mampu meningkatkan regenerasi eksplan *A. annua* (Alfiana, 2020). Berdasarkan pengamatan hasil (Gambar 1) menunjukkan bahwa air kelapa 10% mampu meningkatkan diameter dan bobot kalus eksplan *A. annua* dan menghambat pertumbuhan tunas, sedangkan media tanpa air kelapa mampu membentuk tunas dengan baik. Berdasarkan pengamatan hasil sub kultur pada (Gambar 2) dan (Gambar 3) bahwa media tanpa air kelapa mampu menghasilkan tunas lebih banyak dan lebih hijau dan air kelapa 10% menghambat pertumbuhan tunas karena konsentrasi yang digunakan terlalu tinggi. Disamping itu penggunaan air kelapa sebagai ZPT kandungannya sulit ditentukan karena menurut Karyadi *et al.*, (1995) air kelapa

Muria Jurnal Agroteknologi (MJ-Agroteknologi), Volume 2, Nomor 1, Tahun 2023, hlm. 39-47

berisi jenis ZPT dan vitamin dengan jenis dan kadarnya yang sulit ditentukan karena tergantung

dari jenis dan umur buah kelapa. Penambahan air kelapa justru menghambat pertumbuhan *A. annua* dikarenakan kandungan air kelapa berbeda-beda tergantung jenis dan usia buah kelapa. (Arlianti *et al.*, (2013) menyatakan bahwa pemberian air kelapa mampu memacu pertumbuhan jumlah tunas pada konsentrasi yang rendah, sedangkan pada konsentrasi tinggi pertumbuhan tunas hampir selalu terhambat. Hambatan ini terjadi karena air kelapa yang digunakan dalam penelitian ini diduga mengandung hormon auksin sehingga eksplan cenderung membentuk kalus dan menghambat pertumbuhan tunas. (Zuhro *et al.*, (2017) menyatakan bahwa air kelapa merupakan salah satu bahan alami yang mengandung hormon auksin 0,07 mg/l, giberilin dan senyawa lain yang dapat memacu pertumbuhan tanaman.

Interaksi antara perlakuan sitokinin dan air kelapa terhadap regenerasi eksplan *A. Annua*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi sitokinin dan air kelapa menghambat pembentukan tunas, hal ini dapat dilihat pada (Gambar 2) dan (Gambar 3) bahwa tunas yang dihasilkan pada BAP 0,5 ppm memberikan hasil terbaik karena menghasilkan lebih banyak tunas dan lebih hijau. Menurut Ni'mah (2018) bahwa sitokinin yang digunakan secara kombinasi pada media terhadap pertumbuhan eksplan tergantung interaksi antara hormon endogen dan eksogen. Arismasetiowati (2012) menyatakan bahwa pemberian sitokinin pada media dengan eksplan yang mengandung sitokinin endogen sedikit akan menghasilkan respon yang positif, namun sebaliknya apabila eksplan mengandung sitokinin endogen yang cukup, maka tidak ada respon terhadap pemberian sitokinin, bahkan menghasilkan respon negatif.

SIMPULAN

Sitokinin sangat berpengaruh terhadap waktu muncul kalus, diameter kalus bobot kalus dan jumlah tunas eksplan *A. annua*. Hasil terbaik diperoleh dari perlakuan BAP 0,5 ppm (S3Ak0) terhadap jumlah tunas. BAP 1 ppm + air kelapa 10% (S4Ak1) memberikan hasil terbaik terhadap bobot kalus dengan hasil 6,88 gram. Sedangkan kinetin memberikan hasil terbaik pada waktu muncul kalus dengan hasil 3,00 hari. Air kelapa berpengaruh terhadap waktu muncul kalus, diameter kalus dan bobot kalus eksplan *A. annua*. Hasil terbaik diperoleh pada perlakuan tanpa air kelapa terhadap jumlah tunas dan waktu muncul kalus. Sedangkan air kelapa 10% memberikan hasil terbaik pada diameter dan

bobot kalus dengan hasil rata – rata 1,46 gram dan 4,15 gram. Terjadi interaksi nyata antara perlakuan sitokinin dan air kelapa terhadap waktu muncul kalus dan bobot kalus eksplan *A. annua*.

DAFTAR PUSTAKA

- Karyadi, A. K. & Buchory A. 1995. Pengaruh Komposisi Media Dasar , Penambahan BAP, dan Pikloram terhadap Induksi Tunas Bawang Merah. Jurnal Hortikultura. 5 (4): 38–47.
- Alfiana, Isma. 2020. Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Air Kelapa, BAP dan NAA pada Media DKW terhadap Pertumbuhan Eksplan Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum* Schumach) secara *In Vitro*. Skripsi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi Tasikmalaya.
- Arismarsetiowati, Rina. 2012. Kultur Jaringan Tanaman Kopi. Warta Balai Desa Pusat Penelitian Kakao dan Kopi Indonesia. Diakses pada tanggal 02 September 2022.
- Arlianti, T., Syahid, S. F., Kristina, N. N., & Rostiana, O. (2013). Pengaruh Auksin IAA, IBA, dan NAA Terhadap Induksi Perakaran Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana*) Secara *In Vitro*. Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, 24(2), 57-62.
- Dwiyani, rindang. 2015. Bahan Ajar Teknik Kultur Jaringan (Sistem Regenerasi Tanaman). Fakultas Pertanian Universitas Udayana.
- Hapsoro D & Yusnita. 2018. Kultur Jaringan – Teori dan Praktik. Yogyakarta. Penerbit Andi.
- Dwi, A. F., 2015. Pengaruh pemberian Elisator Fungi Endofit F3 terhadap Kualitas dan Pertumbuhan Kalus *Artemisia* (*Artemisia annua* L). secara *In Vitro*. Skripsi. Universitas Muria Kudus
- Emilda. 2020. Potensi Bahan – bahan Hayati Sebagai Sumber Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) Alami. Jurnal Agroristek. 3 (2): 2721-0728.
- Sitorus, E. N., Hastuti, E. D & Setiari, N. 2011. Induksi Kalus Binahong (*Bassellarubra* L) secara *In Vitro* pada Media Murashige & Skoog dengan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda. Jurnal Bioma. 13 (1).

- Ermayanti, T.M., E.A Hafiih., A.A Lelono., W Rahman & A.F Martin. 2016. Pertumbuhan dan Kadar Artemisin *Artemisia annua L* Hasil Irradiasi Sinar Gamma Terhadap Kultur Tunas Pucuk.
- Fitriani, H. 2008. Kajian Konsentrasi BAP dan NAA Terhadap Multiplikasi Tanaman *Artemisia annua L*. Secara In Vitro. Skripsi Fakultas Pertanian Univeraitas Sebelas Maret.
- Herawati, M.M. 2016. Peningkatan Hasil Artemisinin Melalui Poliploidisasi dan Kultur Teknik Artemisia Cina Berg ex Poljakov. Disertasi. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Ariyanti, N.K., D.N Erwati., R Sarita & S.J Belinda. 2021. Analisis Peran Air Kelapa Terhadap Pertumbuhan Eksplan Kultur Vanili (*Vanilla planifolia*). Agropross: National Conference Proceedings of Agriculture. 6 (9): 89–97.
- Li, I., Syafi²I, W & Zhang, X. 2016. *Study on Enzymatic Browning in Suspesion Cultures of Licorice Cells. Biotechnology & Biotechnological Equipment.* 30 (2): 277-283
- Lutfiah, A & Noor A.H. 2022. Pengaruh Pemberian Elisator Ekstrak Khamir pada Pertumbuhan Kultur Kalus Gambili dengan Penambahan ZPT 2,4D dan Kinetin. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences.* 45 (2): 77- 83.
- Ni'mah, Azimatun. 2018. Multipikasi Tunas Stevia (*Stevia rebaudiana*) pada Berbagai Macam Media Dasar dan Konsentrasi 6-Benzyl Amino Purine (BAP) secara In Vitro. Skripsi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Nuha, A. A. 2022. Pengaruh Berbagai Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Induksi Kalus Daun Porang (*Amarphopallus muelleri* Bulme) secara In Vitro. Skripsi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Pebriyani, K., R. Dwiyani & I.A.P. Darmawati. 2020. Kajian dan Induksi Tunas Anggur Merah (*Vitis vinifera L. var. Prabu Bestari*) dengan Beberapa Jenis Sitokinin Secara In Vitro. *Agroteknologi Tropika.* 9 (4): 279-289.
- Indriani, B. S., Enni Suwarsi R & Krispinus K. Pukan. 2014. Efektivitas Substitusi Sitokinin dengan Air Kelapa pada Multipikasi Tunas Krisan secara in vitro. *Unnes Journal Of Science.* 3 (2): 2252-6277.
- Rahman, A.M. 2020. Induksi Kalus, Tanaman Kopi *Robusta Coffea canhephora L.* Asal Balukumba dengan Penambahan Hormon 2,4-D (*Dichlorophenoxy Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purin*) secara In Vitro. Respository Unhas.
- Sauji, A. 2018. Induksi Akar Kultur *Artemisia annua L* dalam Medium MS (Murashige and Skoog) yang Diperkaya dengan Air Kelapa dan ZPT NAA. Respository Universitas Muria Kudus.
- Efferth T. 2017. *From ancient herb to modern drug: Artemisia annua and artemisinin for cancer therapy.* *Seminars in Cancer Biology.* 46: 65-83.
- Maninggolang, A., Jeany Sh.P.M & Wenny T. 2018. Pengaruh BAP (*Benzyl Amino Purine*) dan Air Kelapa terhadap Pertumbuhan Tunas Pucuk dan Kandungan Sulforafan Brokoli (*Brassica oleracea L. var italic* Plencek) secara In Vitro. *Jurnal Transdisiplin Pertanian.* 14 (1): 585-596.
- Rahardja & W. Wiryanta. 2003. *Aneka Cara Memperbanyak Tanaman.* Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Wikipedia. 2021. <https://id.wikipedia.org/wiki/Sitokinin>. Diakses 23 Mei 2022.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz). *Jurnal Pemuliaan Tanaman.* 6 (3): 181-194.
- Zayova, E., T. Nedev., D. Petrova., M. Zhiponova., V. Kapchina & G. Chaneva. 2020. *Tissue Culture Applications of Artemisia annua L. Callus for Indirect Organogenesis and Productin Phytochemical. Plant Tissue Cult. & Biotech.* 30(1): 97-106.
- Zuhro, F., H.U. Hasanah & Sukadi. 2017. Aplikasi Air Kelelapa Muda dan Pupuk Kascing pada Perkecambahan Biji Palembang Merah (*Cyrtostachys lakka* Becc). *Jurnal Ilmu Dasar.* 18 (1): 17-24.