

**ELISITASI FUNGI ENDOFIT F₉ DAN PENGARUHNYA
TERHADAP KADAR ARTEMISININ KALUS *Artemisia annua*
L. PADA MEDIA MURASHIGE & SKOOG YANG
DIPERKAYA AIR KELAPA**



SKRIPSI

Diajukan Kepada Fakultas Pertanian Universitas Muria Kudus untuk Memenuhi
Sebagian Syarat – syarat Guna Memperoleh Gelar Sarjana Pertanian.

Oleh :

SEDJAHTERA KUSUMA DIPUTRA

NIM : 2010-41-007

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MURIA KUDUS**

2014

SKRIPSI BERJUDUL

**ELISITASI FUNGI ENDOFIT F₉ DAN PENGARUHNYA TERHADAP
KADAR ARTEMISININ KALUS *Artemisia annua* L. PADA MEDIA
MURASHIGE & SKOOG YANG DIPERKAYA AIR KELAPA**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

SEDJAHTERA KUSUMA DIPUTRA

NIM : 2010-41-007

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal : 28 Agustus 2014

dan telah dinyatakan memenuhi syarat untuk diterima

Kudus, Agustus 2014

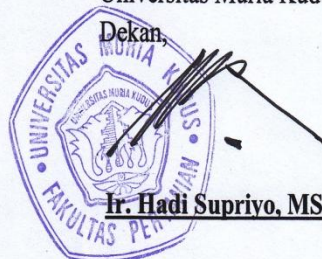
Fakultas Pertanian
Universitas Muria Kudus

Dekan,

Pembimbing Utama,

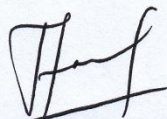


Ir. Shodiq Eko Arivanto, MP.



Ir. Hadi Supriyo, MS.

Pembimbing Pendamping,



Dra. Farida Yuliani, M.Si.

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis panjatkan ke Hadirat Tuhan yang Maha Esa yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul Elisitasi Fungi Endofit F₉ dan Pengaruhnya Terhadap Kadar Artemisinin Kalus *Artemisia Annuua* L. pada Media Murashige & Skoog yang Diperkaya Air Kelapa. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Disertasi Dra. Farida Yuliani, M.Si.

Pada kesempatan ini penyusun menyampaikan terima kasih kepada :

1. Ir. Hadi Supriyo, MS. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Muria Kudus.
2. Ir. Zed Nahdi, M.Sc. selaku Ketua Komisi Sarjana Fakultas Pertanian Universitas Muria Kudus.
3. Ir. Shodiq Eko Ariyanto, MP. selaku Dosen Pembimbing Utama.
4. Dra. Farida Yuliani, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Pendamping dan lapangan.
5. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyelesaian Skripsi ini.

Penyusun menyadari bahwa skripsi ini masih kurang sempurna, oleh karena itu untuk penyempurnaan penyusun sangat mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak. Harapan penyusun semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang memerlukan.

Kudus, Agustus 2014

Penyusun

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	x
INTISARI	xii
ABSTRACT	xiii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan	3
D. Hipotesis	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tanaman Artemisia	4
B. Manfaat dan Struktur Kimia Artemisinin	6
C. Teknik Kultur <i>In Vitro</i>	7
a. Pengertian dan Manfaat	7
b. Inisiasi dan Pertumbuhan Kalus	8
c. Manfaat dan Kandungan Air Kelapa	10
d. Produksi Metabolit Sekunder Melalui Kultur <i>In vitro</i>	12
D. Metabolisme Sekunder Seskueterpen	13
E. Elisitasi	14
F. Mikroba Endofit (Fungi Endofit F ₉)	15

III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu Penelitian	17
B. Bahan dan Alat	17
C. Metode Penelitian.....	19
D. Pelaksanaan Penelitian.....	20
E. Parameter Pengamatan.....	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Analisis Kualitatif.	28
1. Morfologi Elisitor.....	28
2. Inisiasi Kalus <i>Artemisia annua</i> L.....	31
3. Morfologi Kalus <i>Artemisia annua</i> L.	34
B. Analisis Kuantitatif.	40
1. Diameter Kalus Sebelum Elisitasi.....	40
2. Diameter Kalus Sebelum dan Setelah Elisitasi.	42
3. Berat Basah Kalus <i>Artemisia annua</i> L.	44
4. Berat Kering Kalus <i>Artemisia annua</i> L.....	46
5. Analisis Kadar Artemisinin.....	47
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan.....	50
B. Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN-LAMPIRAN	56

DAFTAR TABEL
(LIST OF TABLES)

Tabel <i>Tables</i>		Hal <i>Page</i>
1.	Morfologi kalus artemisia, sebelum dan setelah elisitasi (umur 25 dan 29 hari).	37
1.	<i>Callus morphology of artemisia before and after elicitation (age 25 and 29 days).</i>	
2.	Tekstur dan warna kalus sebelum dan setelah elisitasi.	38
2.	<i>Callus texture and color, before and after elicitation.</i>	
3.	Diameter kalus <i>Artemisia annua</i> L. sebelum elisitasi pada umur 7, 14, 21 dan 25 hari (mm).	39
3.	<i>Callus diameter of Artemisia annua L. before elicitation, at the age of 7, 14, 21 and 25 days (mm).</i>	
4.	Diameter kalus <i>Artemisia annua</i> L. sebelum dan setelah elisitasi (mm).	41
4.	<i>Callus diameter of Artemisia annua L, before and after elicitation (mm).</i>	
5.	Rata-rata diameter kalus <i>Artemisia annua</i> L. sebelum elisitasi dan hasil uji duncan setelah elisitasi (mm).	42
5.	<i>The average callus diameter of Artemisia annua L. before elicitation (mm), and The DMRT results after elicitation.</i>	
6.	Berat segar kalus <i>Artemisia annua</i> L. (mg).	43
6.	<i>Callus fresh weight of Artemisia annua L.(mg).</i>	
7.	Rata-rata berat segar kalus <i>Artemisia annua</i> L. (mg).	43
7.	<i>Average fresh weight of callus of Artemisia annua L. (mg).</i>	
8.	Berat kering kalus <i>Artemisia annua</i> L. (mg)	45
8.	<i>Callus dry weight of Artemisia annua L. (mg).</i>	
9.	Rata-rata berat kering kalus <i>Artemisia annua</i> L. (mg).	45
9.	<i>Average dry weight of Artemisia annua L. callus powder (mg).</i>	

- | | | |
|-----|--|----|
| 10. | Hasil analisis kadar artemisinin (%). | 46 |
| 10. | <i>Results of the analysis of arthmycynyne content (%)</i> . | |
| 11. | Rata-rata kadar artemisinin (%). | 46 |
| 11. | <i>Average artemisinin contents (%)</i> . | |



DAFTAR GAMBAR (LIST OF FIGURES)

Gambar <i>Image</i>	Hal <i>Page</i>
1. 1. Struktur kimia artemisinin <i>The chemical structure of artemisinin</i>	6
2. 2. Morfologi fungi endofit F ₉ pada media PDA di cawan petri (a), di tabung reaksi-tampak depan. (b), tampak belakang (c). <i>Morphology of F₉ endophytic fungi on a PDA medium. In petri dish (a), and in a reaction tube-front view (b), and rear view (c).</i>	28
3. 3. Isolat fungi endofit F ₉ dengan perbesaran 400x. (a) hifa yang bersekat. (b) spora terangkai seperti anggur pada cabang – cabang hifa (c) spora yang telah lepas dari hifa dan berkecambah memunculkan miselium baru. <i>Isolates of endophytic fungi F₉ with 400x magnification. (a) insulated hyphae, (b) tied spores like grapes on branches of hyphae (c) losen spores from the hyphae and germinates producing a new mycelium.</i>	29
4. 4. Kurva pertumbuhan fungi endofit F ₉ pada media PDB (<i>Potato Dextrosa Broth</i>) volume 50 ml. <i>The growth curve of endophytic fungi in 50 ml F₉ Potato Dextrosa Broth (PDB).</i>	30
5. 5. Koloni fungi endofit F ₉ umur 12 hari pada media PDB (<i>Potato Dextrosa Broth</i>) volume 50 ml. <i>The 12 days age of endophytic fungal F₉ in 50 ml. PDB medium.</i>	31
6. 6. Serbuk miselium fungi endofit F ₉ (a), serbuk miselium yang dilarutkan dalam aquades steril (b). <i>Endophytic fungi mycelium powder F₉ (a), mycelium powder dissolved in sterile distilled water (b).</i>	31

7. Morfologi kalus *Artemisia annua* L. berumur 7 hari (a) umur 14 hari (b) umur 21 hari (c) umur 28 hari (d) umur 35 hari (e). 32
7. *The callus morphology of Artemisia annua L. at the age of 7 (a), 14 (b), 21 (c), 28 (d), and 35 days (e).*
8. Kurva rata-rata diameter kalus umur 7, 14, 21 dan 25 hari pada sub kultur ke tiga sebelum elisitasi (mm). 40
8. *The average diameter increase of callus at the age of 7, 14, 21 and 25 days in the third sub-culture before elicitation (mm).*
9. Kurva pengaruh elisitor fungi endofit F₉ terhadap rata-rata kadar artemisinin (%). 47
9. *The influence curve of the endophytic fungal elicitor F₉ on the average artemisinin content (%).*



DAFTAR LAMPIRAN
(LIST OF APPENDIXES)

Lampiran <i>Appendixes</i>		Hal <i>Page</i>
1. 1.	Komposisi media MS (<i>Murashinge</i> dan <i>Skoog</i>). <i>Murashinge end Skoog (MS) medium composition.</i>	56
2. 2.	Analisis kuantitatif artemisinin secara KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi). <i>Quantitative analysis of artemisinin using High Performance Liquid Chromatography (HPLC).</i>	57
3. 3.	Hasil HPLC rata-rata kandungan artemisinin pada kalus <i>Artemisia annua</i> L. <i>The average content of artemisinin in Artemisia annua L. callus.</i>	59
4. 4.	Contoh perhitungan kadar artemisinin. <i>Calculation example for determining the artemisinin content.</i>	60
5. 5.	Berat basah dan berat kering miselium fungi endofit F ₉ pada media PDB volume 50 ml selama 14 hari. <i>The fresh and dry weights of mycelium of the endophytic fungi F₉ in 50 ml GDP medium, for 14 days.</i>	61
6. 6.	Tata letak petak penelitian. <i>Layout of the experimental plots.</i>	62
7. 7.	Matrik sidik ragam. <i>Matrix of the Analysis of Variance.</i>	63
8. 8.	Hasil pengamatan diameter kalus setelah elisitasi (mm). <i>Callus diameter after elicitation.</i>	64
9. 9.	Sidik ragam diameter kalus setelah elisitasi. <i>Analysis of variance for the callus diameter after elicitation.</i>	64
10. 10.	Hasil pengamatan berat segar kalus (mg). <i>Callus fresh weight.</i>	64

11.	Sidik ragam berat segar kalus <i>Artemisia annua</i> L.	65
11.	<i>Analysis of variance for the callus fresh weight Artemisia annua</i> L.	
12.	Hasil pengamatan berat kering kalus <i>Artemisia annua</i> L. (mg).	65
12.	<i>Callus dry weight of Artemisia annua</i> L.	
13.	Sidik ragam berat kering kalus <i>Artemisia annua</i> L.	65
13.	<i>Analysis of variance for the callus dry weight of Artemisia annua</i> L.	
14.	Hasil pengamatan kadar artemisinin/berat kering kalus(%).	66
14.	<i>Artemisinin content/callus dry weight.</i>	
15.	Sidik ragam kadar artemisinin.	66
15.	<i>Artemisinin percentage of variance.</i>	
16.	Gambar tanaman <i>Artemisia annua</i> L.	67
16.	<i>The picture of Artemisia annua</i> L.	
17.	Gambar sterilisasi eksplan.	67
17.	<i>The picture of explants sterilization.</i>	
18.	Gambar penanaman eksplan.	67
18.	<i>The picture of explant planting.</i>	
19.	Gambar tata letak penelitian.	68
19.	<i>The picture of experimental plots.</i>	
20.	Gambar inokulasi fungi endofit F ₉ pada media PDB.	68
20.	<i>The picture of endophytic fungi inoculation F₉ in PDB medium.</i>	
21.	Gambar panen fungi endofit F ₉ .	68
21.	<i>The picture of the harvest of F₉.endophytic fungus.</i>	
22.	Gambar pembuatan homogenate.	69
22.	<i>The picture of homogenate production.</i>	
23.	Gambar elisitasi	69
23.	<i>The picture of elicitation.</i>	
24.	Gambar panen kalus artemisia.	69
24.	<i>The picture of the Artemisia callus harvesting.</i>	

INTISARI

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji pengaruh elisitor fungi endofit *F₉* asal tanaman artemisia terhadap kadar artemisinin dalam kultur kalus *Artemisia annua* L. pada media *Murashige & Skoog* (MS) yang diperkaya dengan air kelapa. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Januari-Juni 2014 di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Muria Kudus.

Penelitian dilakukan dengan metode kultur kalus yang terdiri dari dua tahap. Tahap pertama adalah tahap inisiasi kalus dari eksplan daun artemisia yang ditumbuhkan pada media MS dengan penambahan 1 ppm NAA, 1 ppm BAP, dan air kelapa muda 150 ml/l. Tahap kedua adalah tahap elisitasi kalus *Artemisia annua* L menggunakan elisitor biotik fungi endofit dengan kode isolat *F₉* asal tanaman artemisia selama 4 hari.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor perlakuan yaitu variasi konsentrasi elisitor. Konsentrasi elisitor yang digunakan adalah 0,0 mg BK/ml (K0); 2,0 mg BK/ml (K1); dan 4,0 mg BK/ml (K2), masing-masing 5 ulangan. Data yang diambil terdiri dari data kualitatif (morfologi kalus) yang disajikan secara deskriptif serta data kuantitatif (diameter kalus, berat segar kalus, berat kering kalus, dan kadar artemisinin) yang dianalisis menggunakan uji ANOVA dilanjutkan uji DMRT taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi konsentrasi elisitor tidak mempengaruhi diameter kalus, berat segar kalus, dan berat kering kalus, akan tetapi berpengaruh terhadap kadar artemisinin. Pada konsentrasi 2,0 mg BK/ml (K1), diperoleh kadar artemisinin tertinggi 0,0470% (meningkat 821,57% dibandingkan kontrol), tetapi pada konsentrasi yang lebih tinggi 4,0 mg BK/ml (K2) menurunkan kadar artemisinin 1,96% dibandingkan dengan kontrol.

ABSTRACT

The purpose of this research was to study the effect of F₉ endophytic fungal elicitor on the artemisinin content in Artemisia annua L. callus cultivated in Murashige Skoog medium (MS), enriched with coconut water. This research was performed at the Tissue Culture Laboratory of the Faculty of Agriculture, University of Muria Kudus, from January until June 2014.

This research was done by using callus culture method consisted of two stages. The first, or the initiation stage, was the stage where callus from artemisia leaf explants was grown on MS medium added with 1 ppm of NAA, 1 ppm of BAP, and 150 ml/l of coconut water. The second stage was the stage of Artemisia annua L callus elicitation using F₉ endophytic fungal isolates made from artemisia plant, for 4 days.

The experimental design used in the study was a Completely Randomized Design (CRD) with elicitor concentration as the single factor or treatment, divided into three following levels: 0.0 mg of DW/ml (K0), 2.0 mg of DW/ml (K1), and 4.0 mg of DW/ml (K2), each replicated three times. The data taken consisted of the description of callus morphology as the qualitative data, followed with the measurements of callus diameter, fresh and dry weights, and artemisinin content as the quantitative data which then statistically analyzed using ANOVA and DMRT 5% level.

It was found out at the end of this research, that the elicitor concentration did not significantly affect the callus diameter, nor did its fresh and dry weights, but affected the artemisinin content. Moreover, the concentration of 2.0 mg DW/ml (K1) gave the highest artemisinin content (0.0470%, which was 821.57% higher than that of the control), in contrast to the 4.0 mg DW/ml (K2), that reduced the artemisinin content as low as 1.96% compared to control.