

Pengaruh Pemberian Arang Aktif dan Air Kelapa Terhadap Viabilitas Hasil Enkapsulasi Tunas *Tetrastigma Rafflesiae* Miq.

The effect of activated charcoal and coconut water to shoot encapsulation of *Tetrastigma rafflesiae* Miq.

Dina Hayati Putri^{1*)}, Suwirmen¹⁾ dan Tesri Maideliza²⁾

¹⁾Laboratorium Riset Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, Kampus UNAND Limau Manis Padang – 25163

²⁾Laboratorium Riset Struktur Perkembangan Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, Kampus UNAND Limau Manis Padang – 25163

^{*)} Koresponden : dinha.putri@gmail.com

Abstract

An experimental study to figure out the effect of activated charcoal and coconut water to shoot encapsulation of *Tetrastigma rafflesiae* Miq. has been carried out from October 2013 to February 2014 at Plant Physiology Laboratory, Biology Department, Faculty of Sciences, Andalas University. The experiment used Completely Randomized Design with four treatments and six replications. Treatments consisted of 1g/L activated charcoal, 300 mL/L coconut water and combination between 1g/L activated charcoal and 300 mL/L coconut water. The result showed that addition of activated charcoal and coconut water decreased viability of *T. rafflesiae* encapsulation. The result indicated that the use of MS (Murashige Skoog) medium with 4% sodium alginate and 50 mM CaCl₂.2H₂O formed synthetic seeds with high germination percentage (83%).

Keywords : *Tetrastigma rafflesiae*, encapsulation, activated charcoal, coconut water

Pendahuluan

Tetrastigma rafflesiae merupakan satu-satunya tanaman inang dari bunga langka *Rafflesia arnoldii*. *Rafflesia* ini sangat menggantungkan hidupnya pada tanaman *T. rafflesiae* (Meijer, 1997). Keterbatasan inang yang ada di alam maka *Rafflesia* menjadi sukar untuk dikembangkan secara alami, diperparah dengan banyaknya gangguan habitat.

Banyaknya degradasi dan eksploitasi hutan menyebabkan terganggunya populasi tumbuhan yang ada. Gangguan ini juga akan menyebabkan ketidakseimbangan keberadaan *T. rafflesiae* di habitat alamnya. Keadaan tersebut juga akan berdampak pada jumlah individu dari *R. arnoldii*. Sehingga diperlukan upaya perbanyakan pada genus *T. rafflesiae* sebagai inang *R. arnoldii* untuk menjaga kelestarian tanaman langka di Indonesia, khususnya di Sumatera Barat.

Upaya pelestarian tanaman langka tersebut bisa melalui konservasi *ex situ* dan *in situ*. Upaya pelestarian *ex situ* telah dimulai dengan melakukan perbanyakan secara *in vitro* seperti yang dilakukan oleh Surya dan Idris (2011), penggunaan media MS dengan penambahan kinetin dengan konsentrasi 5 mg/L mampu mempercepat germinasi biji *T. rafflesiae*. Hasil penelitian Sari (2013) menggunakan medium MS dan penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA untuk multiplikasi tunas *T. rafflesiae*. Dari hasil penelitian tersebut diketahui konsentrasi 0,5 mg/L NAA menghasilkan multiplikasi tunas terbaik.

Perbanyakan secara *in vitro* dalam upaya pelestarian tanaman langka memiliki beberapa keuntungan antara lain, perbanyakan tersebut tidak dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan menghasilkan plantlet dalam jumlah banyak pada waktu singkat. Namun dibutuhkan tahapan subkultur untuk mempertahankan status nutrisi pada medium. Secara umum

subkultur perlu dilakukan setiap dua minggu sampai satu bulan. Tahapan subkultur tentunya memerlukan alokasi tenaga dan waktu untuk mempertahankan plantlet *T. rafflesiae* hasil perbanyakan *in vitro*.

Untuk membatasi seringnya dilakukan subkultur dengan tetap mempertahankan tanaman (konservasi secara *in vitro*) maka dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu kryopreservasi dan enkapsulasi. Enkapsulasi adalah membungkus tunas dengan kapsul buatan yang terdiri dari natrium alginat dan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Saiprasaad, 2001)

Enkapsulasi tunas akan menghasilkan biji sintetis yang mampu disimpan dalam jangka waktu yang lama tanpa kehilangan viabilitasnya (kemampuan tumbuh) dan memudahkan dalam proses transportasi serta mudah dikemas pada saat penyimpanan (Arisanti, 2011). Melalui enkapsulasi tunas juga memungkinkan dilakukannya pembibitan bersama antara *T. rafflesiae* dengan *R. arnoldii*.

Keberhasilan enkapsulasi tunas dilihat dari viabilitas kapsul tunas yang dihasilkan. Untuk mendapatkan viabilitas dari kapsul tunas tersebut maka biji sintetis hasil enkapsulasi perlu dibekali dengan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang ditambahkan ke dalam media. ZPT ini antara lain dari golongan sitokinin yang berfungsi dalam pembentukan tunas. Dalam hal ini air kelapa mengandung hormon sitokinin yang terbukti dapat menghasilkan tunas dalam jumlah banyak. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sari, Hetty dan Aspiyah (2011) mendapatkan jumlah tunas dan daun terbanyak dari pertumbuhan *Paphiopedilum supardii* secara *in vitro* pada penambahan konsentrasi 300 ml/L air kelapa kedalam media. Keberadaan ZPT sitokinin dalam air kelapa dijelaskan juga oleh Ge (2004), air kelapa mengandung ZPT sitokinin yang dapat digunakan dalam medium MS.

Selain itu untuk mempertahankan viabilitas biji sintetis hasil enkapsulasi diperlukan penambahan suatu bahan yang dapat menyerap eksudat-eksudat yang dikeluarkan tanaman selama disimpan. Penyerapan eksudat tersebut dapat dilakukan dengan penambahan arang aktif

ke dalam media (Kumar *et al.* 2005). Namun belum diketahui pengaruh kombinasi pemberian air kelapa dan arang aktif terhadap viabilitas hasil enkapsulasi tunas *T. rafflesiae*. Sehingga dengan penambahan air kelapa dan arang aktif kedalam media enkapsulasi dapat diketahui pengaruh dari kedua kombinasi bahan tersebut. Dengan demikian diharapkan mampu dihasilkan biji sintetis *T. rafflesiae* yang mempunyai viabilitas yang baik.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan enam ulangan. Sehingga unit percobaan berjumlah 24 unit. Sebagai perlakuan adalah media tanam yaitu : A : Kontrol (tanpa penambahan arang aktif dan air kelapa, B: 1 g/L arang aktif, C : 300 mL/L air kelapa dan D : kombinasi 1 g/L arang aktif dengan 300 mL/L air kelapa.

Pembuatan media enkapsulasi dan perkecambahan

Stok media MS I – V dipipet sesuai dengan takarannya kedalam media perlakuan. Air kelapa sebanyak 300 mL/L ditambahkan kedalam media sesuai dengan perlakuan. pH media diukur pada kisaran 5,5 – 6,0. Dicukupkan menjadi 500 mL dengan penambahan aquadest. Kemudian ditambahkan 4% natrium alginat dan 1 g/L arang aktif sesuai dengan perlakuan. Selanjutnya disteril dengan autoklaf. Untuk media perkecambahan berupa agar 0,7% yang dilarutkan dalam 1 liter air.

Penyediaan eksplan

Tunas *Tetrastigma rafflesiae* diperoleh dari hasil perbanyakan secara *in vitro* pada media perbanyakan MS + 3 mg/L BAP (Sari, Suwirman dan Idris, 2013).

Enkapsulasi

Tunas aksilar *T. rafflesiae* dipotong ukuran 1 – 3 mm. Media perlakuan dipipet sembari tunas dipegang menggunakan pinset dengan hati-hati. Media diteteskan ke tunas kemudian dijatuhkan kedalam beaker glass yang berisi $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sesuai perlakuan.

Kemudian dishaker pada kecepatan 80 rpm selama 30 menit. Bilas tiga kali dengan aquadest.

Pengamatan

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah :

- Karakter morfologis biji sintetik yang dihasilkan
- Waktu pertama muncul tunas
- Persentase perkecambahan biji sintetik
- Panjang tunas dan jumlah daun
- Waktu muncul akar

Hasil dan Pembahasan

Karakter morfologis biji sintetik yang dihasilkan

Pengamatan morfologis ini terdiri dari karakter bentuk dan kekerasan kapsul yang terbentuk untuk setiap perlakuan. Bentuk yang dihasilkan tergolong bulat dan kekerasan kapsul tergolong padat. Dari bentuk dan kekerasan kapsul tersebut dapat dilihat (Gambar 1) bahwa karakter morfologis biji sintetik pada setiap perlakuan adalah baik. Karakter morfologis biji sintetik yang baik terlihat dari bentuk yang isodiametrik (mempunyai dimensi lebar dan panjang yang sama) dan kekerasan kapsul yang baik dapat dilihat dari kekenyalan kapsul, permukaan kapsul yang licin dan mengkilat. Karakter morfologis ini nantinya akan

mempengaruhi viabilitas dari biji sintetik. Daud, Taha dan Hasbullah (2008), melaporkan bahwa bentuk kapsul isodiametrik dan padat akan menyebabkan tingginya viabilitas biji sintetik yang dihasilkan dibandingkan dengan bentuk lainnya.

Waktu muncul tunas

Penambahan air kelapa dapat mempercepat waktu muncul tunas yaitu dengan kisaran hari muncul tunas 9-14 hst dibandingkan dengan kontrol yaitu selama 15-27 hst (Tabel 1). Hal ini dikarenakan air kelapa mengandung zat pengatur tumbuh yang dibutuhkan selama masa terbentuknya tunas. Widiastoety (1997), menyatakan bahwa air kelapa mengandung zat pengatur tumbuh golongan sitokinin, auksin dan giberelin.

Rata-rata muncul tunas paling lama yaitu perlakuan dengan penambahan arang aktif selama 26-28 hst dibandingkan dengan kontrol yaitu selama 15-27 hst (Tabel 1). Hal ini diduga karena arang aktif tidak dapat mempercepat waktu muncul tunas dikarenakan kemampuan arang aktif menyerap senyawa-senyawa dalam media. Kumar *et al.* (2005), menyatakan bahwa arang aktif tidak hanya menstimulasi difusi gas dan nutrisi serta respirasi, namun arang aktif juga dapat menyerap eksudat-eksudat yang terdapat dalam media.

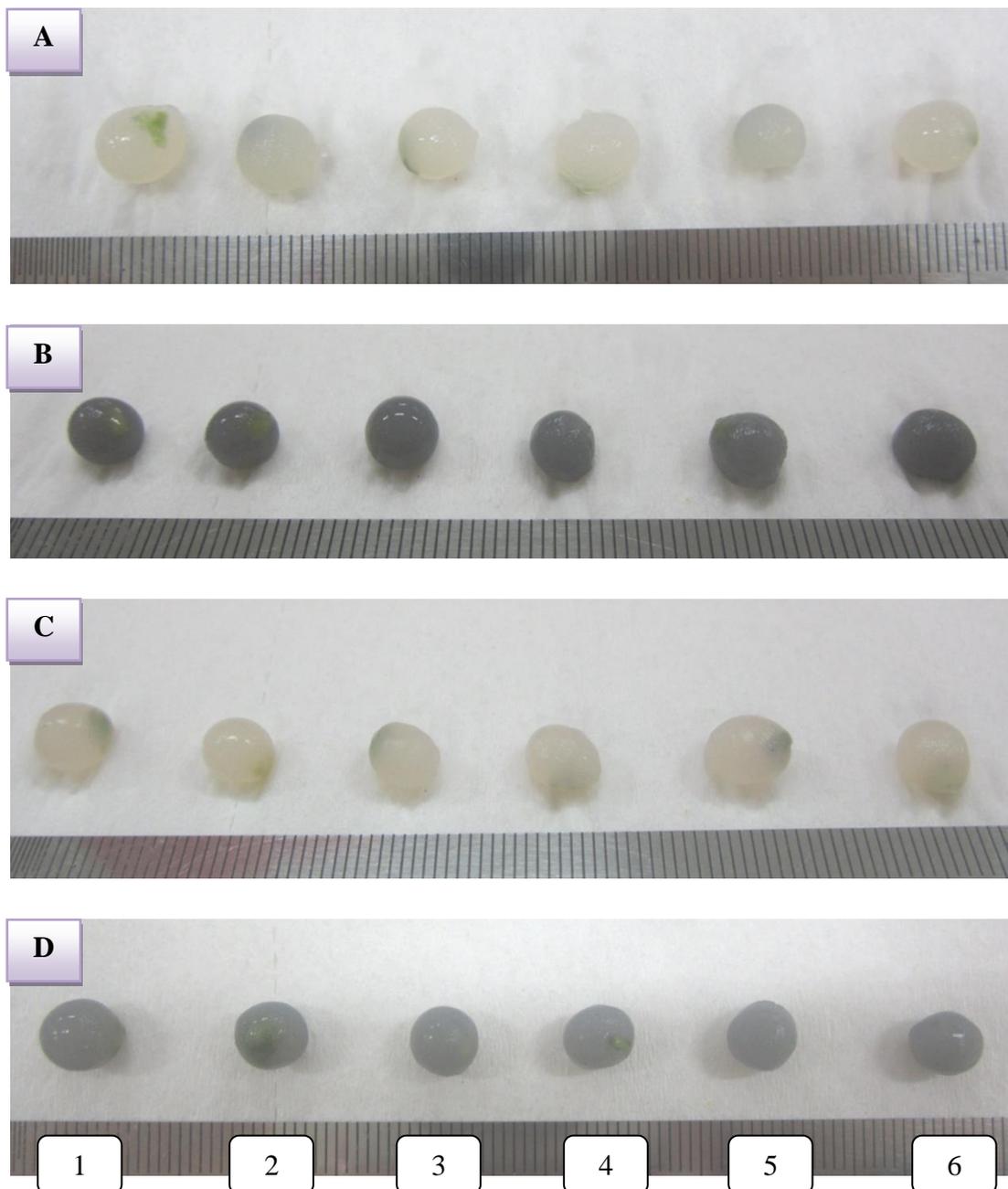
Tabel 1. Rata-rata hari pertama muncul tunas (kisaran) pada masing-masing perlakuan.

Perlakuan	Hari muncul tunas (hst) Kisaran ($\bar{x} \pm Sd$)
A (kontrol)	15-27 ($19 \pm 4,72$)
B (arang aktif 1g/L)	26-28 ($27 \pm 1,00$)
C (300 ml/L air kelapa)	9-14 ($11 \pm 2,23$)
D (arang aktif 1g/L+ 300 ml/L air kelapa)	21-25 ($23 \pm 2,12$)

Keterangan : hst = hari setelah tanam

Tabel 2. Rata-rata panjang tunas dan jumlah daun biji sintetik *Tetrastigma rafflesiae*

Perlakuan	Rata-rata panjang tunas (mm)	Jumlah daun (helai)
A (kontrol)	1,57 a	1,44 a
B (arang aktif 1g/L)	1,15 a	0,94 c
C (air kelapa 300mL/L)	1,47 a	1,40 b
D (arang aktif 1g/L+ air kelapa 300mL/L)	1,23 a	0,88 d



Gambar 1. Pengamatan karakter morfologis biji sintetik yang dihasilkan dari enam biji sintetik yang disusun berurutan dari ulangan 1– ulangan 6.

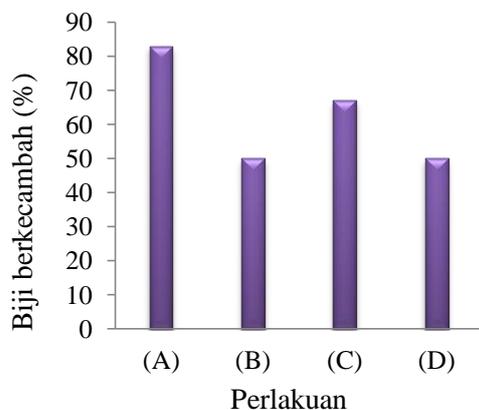
Keterangan : A. Kontrol, B. Arang aktif 1g/L, C. Air kelapa 300mL/L, D. Arang aktif 1g/L+ air kelapa 300mL/L. D 1-6 adalah ulangan.

Persentase perkecambahan biji sintetik

Persentase perkecambahan biji sintetik setelah pengujian daya regenerasi selama empat minggu pengamatan dapat dilihat pada Gambar 2, yang menunjukkan bahwa seluruh perlakuan memperlihatkan presentase perkecambahan yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol sebesar 83%.

Jika dilihat pemberian perlakuan B dan D menurunkan persentase perkecambahan yaitu sebesar 50% (Gambar 2). Penurunan ini diduga disebabkan oleh kemampuan arang aktif menyerap nutrisi yang ada pada media, sehingga nutrisi tersebut tidak mencukupi untuk pertumbuhan tunas tertentu. Sesuai dengan pernyataan Kumar *et al.* (2005), bahwa

arang aktif dapat menyerap senyawa-senyawa dalam media. Selain itu penggunaan arang aktif dengan konsentrasi 1 g/L diduga terlalu tinggi untuk pertumbuhan tunas *T. rafflesiae*. Menurut Bar-nun (2008), penambahan arang aktif pada media dapat menstimulir keberadaan hormon auksin, namun penggunaan dalam konsentrasi tinggi tidak disarankan karena menghambat perkecambahan.



Gambar 2. Grafik persentase jumlah biji sintetik *T. rafflesiae* yang berkecambah

Keterangan : A. Kontrol, B. Arang aktif 1g/L, C. Air kelapa 300mL/L, D. Arang aktif 1g/L+ air kelapa 300mL/L.

Apabila dibandingkan antar perlakuan dapat terlihat bahwa perlakuan C dengan penambahan air kelapa 300 mL/L mempunyai persentase perkecambahan yang lebih tinggi yaitu sebesar 67% dibandingkan dengan perlakuan B (arang aktif 1 g/L) dan D (arang aktif 1 g/L + 300 mL/L air kelapa) sebesar 50% (Gambar 2). Hal ini dikarenakan air kelapa mengandung ZPT alami salah satunya sitokinin yang mampu mempercepat pertumbuhan tunas. Walaupun demikian perlakuan C mempunyai persentase perkecambahan yang lebih rendah atau mengalami penurunan sebesar 19,28% dibandingkan kontrol. Hal ini diduga disebabkan oleh pemberian konsentrasi air kelapa yang belum optimal. Konsentrasi yang tinggi akan menyebabkan terganggunya pertumbuhan tunas.

Panjang tunas dan jumlah daun.

Perlakuan untuk rata-rata panjang tunas secara statistik tidak memberikan pengaruh

(Tabel 2). Namun kecenderungan kontrol memiliki rata-rata panjang tunas lebih tinggi yaitu 1,57 mm. Hal ini disebabkan kontrol telah memiliki nutrisi yang cukup untuk mendukung pertumbuhan tunas karena mengandung medium MS (Murashige and Skoog). Menurut Yusnita (2003), bahwa media MS mengandung hara makro, hara mikro, vitamin, myoinositol dan sukrosa yang essential dalam pertumbuhan tanaman. Begitu juga dengan jumlah daun yang dihasilkan.

Perlakuan dengan penambahan arang aktif memiliki rata-rata panjang tunas dan jumlah daun yang paling rendah yaitu 1,15 mm dibandingkan perlakuan air kelapa 1,47 mm. Hal ini disebabkan arang aktif dapat menyerap senyawa-senyawa dalam media.

Waktu muncul akar

Pada penelitian terhadap pertumbuhan hasil enkapsulasi tunas *T. rafflesiae* yang telah dilakukan diketahui tidak ada akar yang muncul selama uji daya perkecambahan. Tidak adanya akar yang muncul diduga disebabkan oleh waktu perkecambahan yang singkat sehingga tunas hasil enkapsulasi *T. rafflesiae* belum mampu membentuk akar. Menurut Sharma and Thorpe (1990), bahwa tunas *in vitro* pada tanaman *Morus alba* akan tumbuh pada media perakaran dalam waktu empat minggu.

Penyebab lain terhambatnya pertumbuhan akar pada seluruh perlakuan adalah penggunaan eksplan yang berasal dari tunas aksilar. Menurut Warnita (2004), penggunaan tunas aksilar sebagai eksplan dalam pertumbuhan tanaman secara *in vitro* sering kali memiliki kendala dalam proses pertumbuhan akar karena tidak adanya primordial akar seperti halnya embrio somatik. Ditambahkan oleh Nower (2007), persaingan antara tunas dan akar dalam konsumsi karbohidrat dapat mengakibatkan keterbatasan dalam pertumbuhan akar. Selama pertumbuhan akar membutuhkan energi dalam bentuk penyediaan karbohidrat untuk pertumbuhan akar normal.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian terhadap pengaruh pemberian arang aktif dan air kelapa terhadap viabilitas hasil enkapsulasi tunas *T. rafflesiae* dapat disimpulkan bahwa media dengan penambahan arang aktif dan air kelapa menurunkan viabilitas hasil enkapsulasi *T. rafflesiae*.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada M. Idris M.Si yang telah membantu dalam rancangan penelitian dan Dr. Zozy Aneloi Noli, Dr. Nurainas, Dr. Chairul M, Dr. Rizaldi serta Dr. Henny Herwina yang telah memberikan saran dan masukan terhadap penulisan hasil penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Arisanti, Y. 2011. *Teknologi dan Produksi Benih Sintetik*. Direktorat Jenderal Perkebunan-Kementrian Pertanian. Jakarta.
- Bar-nun, N., T. Sachs and A. M. Mayer. 2008. A Role for IAA in the Infection of *Arabidopsis thaliana* by *Orobanche aegyptiaca*. *Annals of Botany* 101: 261–265.
- Daud, N., R. M, Taha dan N. A. Hasbullah. 2008. Artificial Seed Production from Encapsulated Micro Shoots of *Saintpaulia ionantha* Wendl. (African violet). *Journal of Applied Sciences* 8 (24): 4662-4667.
- Febriyanti. 2013. Perakaran Secara *In Vitro* dan Aklimatisasi *Tetrastigma Rafflesiae* Sebagai Upaya Penyediaan Bibit Inang Rafflesia. [Skripsi]. Universitas Andalas. Padang
- Kumar, M.B.A., V. Vakeswaran, V. Krisnasamy. 2005. Enhancement of Shyntetic Seed Conversion to Seedling in Hybrid Rice. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 81: 97-100.
- Meijer, W. 1997. *Rafflesiaceae. Flora Malesiana Series I* 13: 1-42.
- Nower, A. A. 2007. Synthetic Seeds of Pear (*Pyrus communis* L.) Rootstock Storage *In vitro*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 1(3): 262-270.
- Saiprasad, G. V. S. 2001. Artificial Seeds and Their Application. *Article General Resonance*: 39-47.
- Sari, R. P. 2013. Multiplikasi Tunas *Tetrastigma rafflesia* dalam media Murashige –Skoog dan penambahan 6-Benzyl Amino Purine dan 1-Naftalane Acetic Acid. [Skripsi]. Universitas Andalas. Padang.
- Sharma, K. K. and T. A Thorpe. 1990. *In vitro* Propagation of Mulberry (*Morus Alba* L.) Through Nodal Segments. *Scientia Horti* 42: 307-320.
- Surya, N.W. dan Idris M. 2011. A Preliminary Study on *In vitro* Seed Germination and Rooted callus Formation of *Tetrastigma rafflesiae* (Vitaceae). *Gardens Bulletin Singapore* 63 (1 & 2): 449-505.
- Warnita. 2004. Pengaruh Paclobutrazol Terhadap Produksi dan Ketahanan Bibit Mikro Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Siap Enkapsulasi. *Jurnal Stigma*. ISSN. 0853-3776. 12(2).
- Yusnita. 2004. *Kultur Jaringan, Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Agromedia Pustaka. Jakarta.