



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**RESPON PERTUMBUHAN TUNAS ANDALAS (*Morus macroura*
Miq.) HASIL ENKAPSULASI SUHU PENYIMPANAN YANG
BERBEDA**

SKRIPSI



WIDIA RAHMATULLAH
0810421009

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2012

Respon Pertumbuhan Tunas Andalas (*Morus macroura* Miq.) Hasil Enkapsulasi
pada Suhu Penyimpanan yang Berbeda

Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
Untuk memperoleh gelar Sarjana Sains bidang studi Biologi

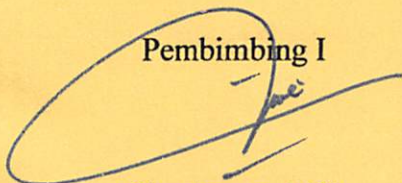
Oleh

Widia Rahmatullah
B.P. 08 104 21 009

Padang, April 2012

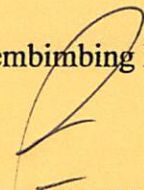
Disetujui oleh:

Pembimbing I



(Suwirman, MS)
NIP. 1963041919889011001




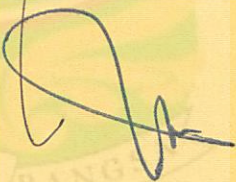
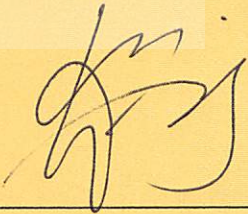
Pembimbing II



(Dr. Zozy Aneloi Noli)
NIP. 196408261991032002

**Skripsi ini telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Biologi,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas,
Padang**

Pada hari Senin tanggal 27 April 2012

| No. | Nama | Jabatan | Tanda Tangan |
|------------|----------------------|----------------|--|
| 1. | Prof. Dr. Syamsuardi | Ketua |  |
| 2. | Drs. Suwirmen, MS | Sekretaris |  |
| 3. | Dr. Zozy Aneloi Noli | Anggota |  |
| 4. | Dr. Erizal Mukhtar | Anggota |  |
| 5. | M. Idris, MSi | Anggota |  |

DAFTAR ISI

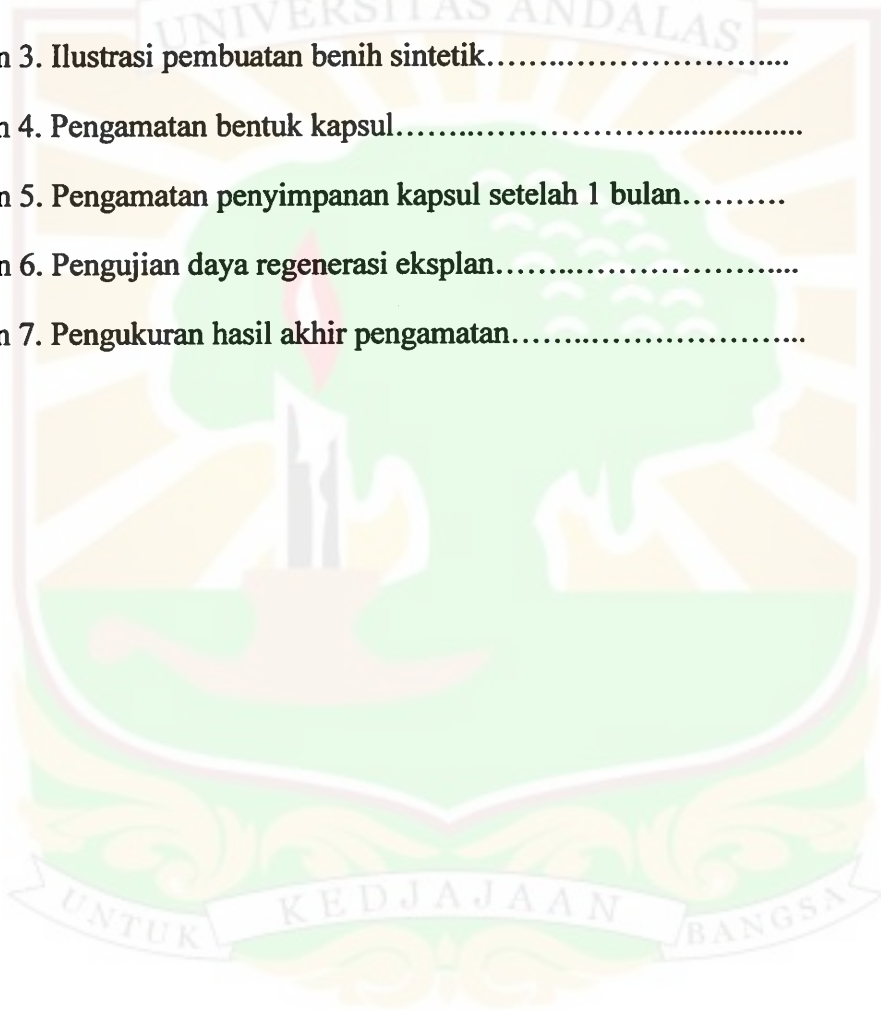
| | Hal. |
|--|------|
| ABSTRAK..... | i |
| ABSTRACT..... | ii |
| KATA PENGANTAR..... | iii |
| DAFTAR ISI..... | v |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | vi |
| I. PENDAHULUAN | |
| 1.1.Latar Belakang Masalah..... | 1 |
| 1.2. Perumusan Masalah..... | 5 |
| 1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian..... | 5 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1. Tanaman Andalas | 7 |
| 2.2. Kultur Jaringan..... | 9 |
| 2.3. Enkapsulasi dan Biji Sintetik | 10 |
| 2.4. Zat Pengatur Tumbuh | 12 |
| III. PELAKSANAAN PENELITIAN | |
| 3.1. Waktu dan Tempat..... | 14 |
| 3.2. Metoda Penelitian..... | 14 |
| 3.3. Bahan dan Alat..... | 14 |
| 3.4. Prosedur Kerja | |
| 3.4.1. Sterilisasi Alat..... | 15 |
| 3.4.2. Persiapan Enkapsulasi..... | 15 |
| 3.4.3. Penyediaan Eksplan | 15 |

| | |
|--|----|
| 3.4.4. Penyalutan atau Enkapsulasi | 16 |
| 3.4.5. Penyimpanan Kapsul | 16 |
| 3.4.6. Pengujian Daya Regenerasi..... | 16 |
| 3.5. Pengamatan | |
| 3.5.1 Bentuk Kapsul Setelah Penyimpanan | 17 |
| 3.5.2 Waktu Tunas Menembus Kapsul | 17 |
| 3.5.3 Persentase Tunas Yang Menembus Kapsul | 17 |
| 3.5.4 Panjang Tunas dan Jumlah Daun..... | 17 |
| 3.5.5 Waktu Muncul Akar Jumlah Akar dan Panjang Akar..... | 17 |
| 3.6. Analisa Data..... | 18 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| 4.1. Bentuk Kapsul setelah penyimpanan..... | 19 |
| 4.2. Waktu Munculnya Tunas, Persentase Eksplan yang Bertunas | 22 |
| 4.3. Panjang Tunas dan Jumlah Daun | 25 |
| 4.5. Waktu Muncul Akar, Jumlah Akar, Panjang Akar, dan Panjang Akar | 28 |
| V. KESIMPULAN DAN SARAN | |
| 5.1. Kesimpulan..... | 29 |
| 5.2. Saran..... | 29 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | |
| LAMPIRAN..... | |

DAFTAR LAMPIRAN

Hal.

| | |
|--|--|
| Lampiran 1. Komposisi Medium Murashige-Skoog (MS) | |
| Lampiran 2. Tabel data perkecambahan benih sintetik Andalas..... | |
| Lampiran 3. Ilustrasi pembuatan benih sintetik..... | |
| Lampiran 4. Pengamatan bentuk kapsul..... | |
| Lampiran 5. Pengamatan penyimpanan kapsul setelah 1 bulan..... | |
| Lampiran 6. Pengujian daya regenerasi eksplan..... | |
| Lampiran 7. Pengukuran hasil akhir pengamatan..... | |

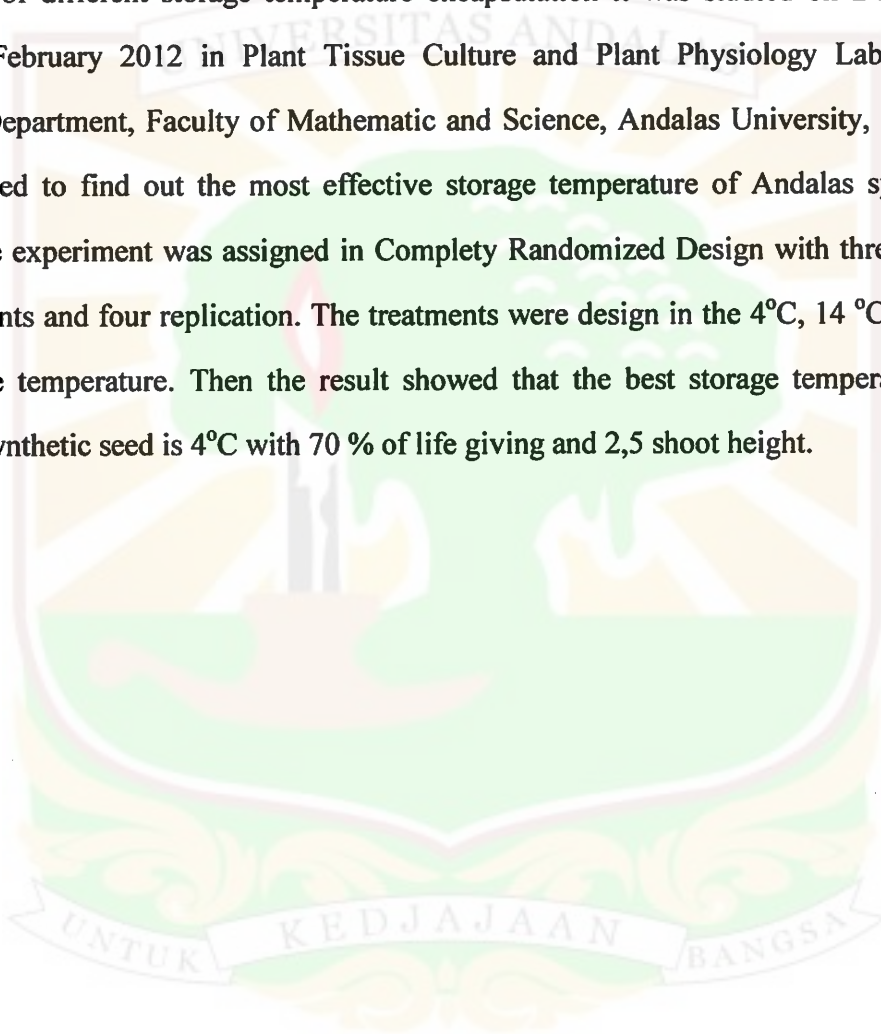


ABSTRAK

Penelitian tentang respon pertumbuhan tunas Andalas (*Morus macroura* Miq) hasil enkapsulasi pada suhu penyimpanan yang berbeda telah dilakukan pada bulan Desember 2011 sampai Februari 2012 di Laboratorium Kultur Jaringan dan Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui suhu penyimpanan yang efektif pada benih sintetis tanaman Andalas. Penelitian dilakukan dengan metoda eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 10 ulangan. Sebagai perlakuan adalah penyimpanan benih sintetis Andalas pada suhu 4°C, 14 °C dan 23 °C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu penyimpanan terbaik untuk benih sintetis Andalas adalah 4 °C dengan persentase hidup 70 % dan tinggi tunas 2,5 mm.

ABSTRACT

The research is about the growth of Andalus plant (*Morus macroura* Miq) response as the result of different storage temperature encapsulation it was studied on December 2011 to February 2012 in Plant Tissue Culture and Plant Physiology Laboratory, Biology Department, Faculty of Mathematic and Science, Andalas University, Padang. It conducted to find out the most effective storage temperature of Andalus synthetic seeds. The experiment was assigned in Completely Randomized Design with three kinds of treatments and four replication. The treatments were design in the 4°C, 14 °C dan 23 °C storage temperature. Then the result showed that the best storage temperature of Andalus synthetic seed is 4°C with 70 % of life giving and 2,5 shoot height.



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Pohon Andalas (*Morus macroura* Miq.) tumbuh tersebar mulai dari India, China bagian selatan, Kamboja, Thailand, dan Indonesia. Di Indonesia tanaman ini hanya bisa ditemukan di Sumatera dan Jawa bagian barat. Habitat pohon Andalas terdapat di hutan-hutan dataran tinggi dengan curah hujan yang cukup banyak pada ketinggian antara 900-2.500 meter di atas permukaan laut (dpl). Pohon yang ditetapkan sebagai tanaman khas (flora identitas) provinsi Sumatera barat ini terkenal sebagai kayu yang kuat, tahan serangga dan tidak mudah lekap oleh panas maupun lapuk oleh hujan. Oleh karenanya kayu Andalas sering dimanfaatkan sebagai bahan bangunan untuk rumah baik sebagai tiang, balok landasan rumah, papan dinding, maupun lantai. Selain itu kayunya juga kerap kali dipergunakan untuk pembuatan perabot rumah tangga (Anonymous, 2011).

Pohon Andalas tahan terhadap rayap dan cuaca, kualitas kayu yang baik ini menyebabkan tanaman ini terancam punah karena ditebang pada umur muda. Pada kayu andalas terdapat suatu senyawa anti mikroba dan sejenis fitoaleksin serta anti tumor. Disamping karena gangguan manusia, punahnya tanaman yang disebabkan gangguan larva dari serangga dan hewan vertebrata lainnya (Dahlan, 1993).

Meskipun tidak termasuk dalam “daftar merah” (*red list*) *International Union for Conservation of the Nature* (IUCN), tetapi di Indonesia (baik di Jawa maupun di Sumatera), tanaman ini mulai langka dan sulit ditemukan. Tentunya kita tidak menginginkan sebuah maskot provinsi akan menjadi punah. Ditetapkannya pohon Andalas sebagai flora identitas Sumatera Barat mungkin tidak terlepas dari pemanfaatan kayu Andalas sebagai bahan pembangunan rumah adat di daerah Minangkabau. Sayangnya pohon ini mulai langka dan sulit ditemukan. Bahkan untuk

memperoleh kayunya seringkali memerlukan perjalanan sehari-hari menuju lokasinya di hutan (Anonymous, 2011).

Pohon Andalas mempunyai bunga jantan dan bunga betina yang terpisah satu sama lainnya. Hal ini merupakan faktor sukarnya perbanyakan tanaman secara seksual. Mengingat populasi tanaman ini di daerah penyebaran sangat terbatas, maka dikhawatirkan pohon ini akan punah jika tidak diusahakan pelestariannya. Kendala pengadaan bibit unggul secara konvensional adalah sulit mendapatkan bibit yang berkualitas dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat. Salah satu keunggulan perbanyakan tanaman melalui teknik kultur jaringan adalah sangat dimungkinkan mendapatkan bahan tanam dalam jumlah besar dalam waktu singkat (Dahlan, 1993).

Perbanyakan tanaman Andalas melalui teknik kultur jaringan merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk membudidayakan tanaman endemik ini. Penelitian Andalas sebelumnya telah dilakukan oleh Suwirman (2007) untuk memperbanyak bibit Andalas secara *in vitro* dengan menggunakan medium MS dengan penambahan 3 mg/L Benziladenin (BA) dan 10 mg/L biotin sebagai media multiplikasi. Pohan (2006) telah mengkultur pucuk tanaman Andalas pada berbagai media dasar dengan penambahan 2 mg/L 6-Benzylaminopurin (BAP). Selain itu Pratiwi (2010) juga telah melakukan enkapsulasi pada tanaman Andalas ini.

Teknik enkapsulasi merupakan teknik pembungkusan eksplan (embrio somatik atau meristem atau tunas pucuk) dengan suatu pembungkus khusus yang membuat eksplan tidak mudah rusak dan dapat tumbuh. Teknik enkapsulasi ini dikembangkan oleh Redenbaugh, Nichol, Rossler dan Paasch (1985) dengan cara membungkus embrio somatik dengan natrium alginat, yaitu sejenis gel yang diperkaya dengan hara, Zat Pengatur Tumbuh (ZPT), mikroorganisme yang bersifat simbiosis misalnya Rhizobium dan VAM (Vesicular Arbuscular Mycorrhiza) atau komponen lain yang berfungsi dalam perkecambahan.

Tunas yang akan dijadikan sebagai eksplan pada enkapsulasi berasal dari tunas yang ditumbuhkan pada medium MS + 3 mg/l BAP, sesuai dengan penelitian Suwirman (2007), bahwa tunas Andalas mampu tumbuh baik pada medium tersebut dengan daun besar, ketiak daun mengeluarkan tunas baru dan pucuk besar. Penelitian tentang benih sintetik dengan enkapsulasi telah dilakukan oleh Pratiwi (2010) dimana konsentrasi terbaik dalam membentuk benih sintetik tanaman Andalas adalah 4% natrium alginat dan 50 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dengan bentuk kapsul tetap utuh, tidak ada kapsul yang terurai dengan persentase hidup 40 % dan tinggi tunas 1,2 cm. Berhasilnya perkecambahan benih sintetik itu karena kemampuan tunas mikro untuk menyerap nutrisi dalam larutan natrium alginat. Pada saat yang sama, faktor internal terkait dengan tunas mikro juga dapat menjadi salah satu faktor pembatas penting yang mempengaruhi frekuensi perkecambahan.

Menurut Stein (2010) ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi perkecambahan benih antara lain kelembaban, suhu dan cahaya. Benih membutuhkan kelembaban yang cukup untuk dapat berkecambah dengan baik. Benih berkecambah di picu oleh keberadaan air. Suhu juga sangat mempengaruhi proses perkecambahan. Suhu menjadi faktor yang paling penting dalam mengaktifkan gen yang terkait dengan metabolisme Gibberellic Acid (GA). Suhu mempengaruhi proses metabolisme seluler dan tingkat pertumbuhan. Benih memiliki rentang suhu dimana benih tersebut mampu berkecambah dan tidak melakukannya di bawah rentang itu. Banyak benih yang berkecambah dibawah suhu kamar (16-24 °C). Ada beberapa jenis tumbuhan yang mampu berkecambah di bawah titik beku, sementara juga ada yang berkecambah hanya di dalam respon pergantian antara hangat dan dingin (Derek, Black, Michael, Halmer, Peter, 2006).

Penyimpanan merupakan faktor penting dalam mempertahankan viabilitas biji sintetik sebelum dikecambahkan atau selama waktu pengiriman dari suatu tempat ke tempat lain. Oleh karena itu biji sintetik harus diletakan pada suhu penyimpanan yang efektif selama pengiriman. Selain itu penelitian tentang teknik penyimpanan benih sintetik juga harus di lakukan dalam upaya mensukseskan program konservasi benih sintetik plasma nutfah yang terancam punah di masa depan (Maruyama, Konishita, Ishi, Shigenaga, Olibak, Saito, 1997).

Mohanraj, Ananthan dan Bai (2009) telah melakukan penelitian terhadap efek penyimpanan pada regenerasi benih sintetik pada angrek. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa persentase perkecambahan benih sintetik yang disimpan didalam pada suhu kamar selalu jauh lebih rendah dibandingkan dengan yang disimpan pada suhu 4°C. Hasil yang sama juga telah dilaporkan pada *Spathoglottis plicata* bahwa benih sintetik yang disimpan pada 4°C dibandingkan yang disimpan pada suhu kamar menunjukkan persentase perkecambahan yang lebih tinggi. Namun persentase perkecambahan hasil enkapsulasi secara bertahap mengalami penurunan dengan meningkatnya waktu penyimpanan. Hal ini mungkin disebabkan karena lingkungan anaerobik dalam kapsul. Huda dan Bari (2007) juga mengatakan bahwa benih sintetik terung (*Solanum melongena* L.) dapat disimpan pada suhu 4° C selama 45 hari.

Menurut Bapat, Mhatre dan Rao (1987) mengatakan benih sintetik tunas aksilar murbei bisa disimpan pada suhu 4 °C selama 45 hari tanpa kehilangan viabilitas jika diregenerasikan pada media yang tepat. Hal ini juga telah dibuktikan oleh Kavyashree, Gayatri dan Siddaiah (2006) yang menyatakan bahwa benih sintetik Murbei dapat disimpan satu sampai empat bulan pada 4° C tanpa kehilangan viabilitasnya.

Ikhlaq dan Ahmad (2010) telah melakukan penelitian tentang pengaruh kondisi penyimpanan berbeda pada benih sintetis pada tanaman zaitun. Hasil yang di dapatkan menunjukkan bahwa benih sintetis zaitun berkecambah dengan baik pada suhu 4°C pada interval hari ke 45, namun cenderung menurun setelah itu. Nower (2007) juga telah melakukan penelitian tentang penyimpanan benih sintetis pada *Pyrus communis* L. Dari hasil penelitiannya dapat disimpulkan bahwa benih sintetis yang disimpan selama 30 hari pada suhu 4°C mampu berkecambah dengan baik. Sedangkan tanaman aromatik India, *Artemesia vulgaris* mampu bertahan hidup selama 60 hari dengan 2 % alginat yang disimpan pada suhu 5°C.

1.2 Perumusan Masalah

Perbanyakan tanaman Andalas telah dilakukan melalui teknik enkapsulasi dan telah diketahui juga konsentrasi natrium alginat dan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ yang terbaik untuk membentuk kapsul, namun belum diketahui tempat penyimpanan yang paling efektif untuk menghasilkan benih sintetis Andalas yang mampu tumbuh dengan baik.

Dari uraian diatas maka dapat di kemukaan masalah sebagai berikut:

1. Pada suhu berapakah yang paling efektif untuk penyimpanan biji sintetis Andalas?
2. Bagaimanakah respon perkecambahan dan pertumbuhan biji sintetis Andalas setelah disimpan pada temperatur yang berbeda?

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Berdasarkan rumusan permasalahan yang dikemukakan diatas dan masih sedikitnya informasi mengenai benih sintetis dengan teknik enkapsulasi maka dilakukanlah penelitian ini dengan tujuan sebagai berikut :

1. Mengetahui suhu penyimpanan biji sintetik Andalas yang paling efektif setelah enkapsulasi.
2. mengetahui respon perkecambahan dan pertumbuhan biji sintetik Andalas yang telah disimpan pada suhu yang berbeda.

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam mengembangkan teknik enkapsulasi sehingga nantinya bisa bermanfaat dalam upaya pelestarian dan konservasi tanaman ini sebagai maskot flora Sumatra Barat.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Tanaman Andalas

Pohon Andalas (*Morus macroura* Miq) merupakan flora identitas (maskot flora) daerah Sumatra Barat yang termasuk ke dalam famili moraceae. Di Sumbar tanaman ini di gunakan sebagai bahan bangunan untuk rumah dan perabot. Dahulu rumah adat (rumah gadang) di sumbar mempunyai tiang dari kayu Andalas (Dahlan, 1994).

Klasifikasi dari tanaman Andalas: (Boer dan Sosef, 2000)

| | |
|------------|------------------------------|
| Divisi | : Spermatophyta |
| Sub Divisi | : Angiospermae |
| Kelas | : Dicotyledonae |
| Ordo | : Uticales |
| Famili | : Moraceae |
| Genus | : Morus |
| Spesies | : <i>Morus macraura</i> Miq. |

Pohon Andalas tergolong kayu berkualitas tinggi. Pohonnya bisa mencapai tinggi 40 m dengan garis tengah 1 m. Batang bebas cabangnya bisa mencapai lebih dari 15 m sehingga untuk bahan balok cukup baik. Bentuk daun mirip daun murbai yang memang kerabat dekatnya, seperti jantung namun permukaan daunnya sedikit kasar karena ada bulu-bulunya. Tangkai daun maupun cabangnya juga berbulu, bulu-bulu tersebut bisa menyebabkan gatal-gatal pada kulit yang peka. Buahnya menggerombol berwarna merah bila masak, berair dan terasa asam-manis mirip buah murbai. Pohon Andalas tergolong jenis yang tumbuh didataran tinggi. Tumbuhnya di hutan-hutan campuran yang cukup hujan dataran tinggi pada 900 - 2500 m dpl (Boer dan Sosef, 2000).

Menurut Wardayono (2009) kayu Andalas berwarna kekuningan bila masih basah dan kecoklatan kalau sudah kering serta serat kayunya halus. Kayu andalas yang sudah tua hampir tidak dapat dibedakan dengan kayu jati. Apabila di potong, kayu Andalas akan mengeluarkan getah berwarna putih agak ke abu abuan. Pohon Andalas memiliki percabangan banyak, kulit batang kasar dan beralur agak dalam dengan warna kulit putih ke abu abuan dan merah kecoklatan.

Tanaman ini tahan terhadap rayap dan pengaruh suhu. Untuk kawasan malesia tanaman ini hanya terdapat di Sumatera dan yang terdapat di Jawa diduga dibawa dari Sumatera. Dewasa ini populasi tanaman ini sudah sangat sedikit karena tanaman ini belum dibudidayakan dan penduduk lebih banyak menebangnya pada ukuran yang masih kecil karena selalu ada pembeli yang menginginkannya (Dahlan, 1994)

Wilayah penyebaran pohon Andalas yaitu Indonesia, Philipina, dan Papua New Guine. Di indonesia pohon Andalas dapat ditemukan di daerah Lembah Anai dan Lembah Gunung Merapi (nagari Paninjauan, Andaleh, Balai Satu) Kabupaten Tanah Datar. Disamping itu Andalas dapat ditemukan di kaki Gunung Talang, sekitar daerah Maninjau, Sungai Puar, Batang Barus dan di kaki Gunung Sago. Dapat dikatakan populasi Andalas di alam sudah sangat terbatas dan hanya dapat ditemukan di beberapa lokasi di Sumatera Barat (Heyne *cit* Wardiyono, 2009).

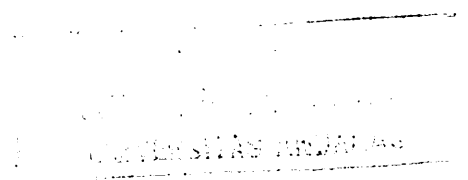
Tanaman Andalas sampai saat ini belum dapat dibudidayakan melalui biji sebab biji bijinya jarang ditemukan yang masak sebab sangat disukai oleh hewan dan vertebrata lainnya. Salah satu perkembangan alami lainnya adalah melalui stek akar. Sebenarnya tumbuhan ini dapat dibudidayakan melalui stek pucuk namun pekerjaan ini belum memasyarakat dan walaupun ada maka sangat jarang yang berhasil sebab bakal tumbuhan ini harus diperhatikan kelembaban dan intensitas cahaya matahari yang diperlukan (Raibilan, 1993).

2.2 Teknik Kultur Jaringan

Teknik kultur jaringan saat ini sangat berkembang dan telah banyak memberikan sumbangan dalam perkembangan ilmu botani. Salah satu potensi kultur jaringan ini adalah dalam propagasi tanaman (perbanyak tanaman). Potensi ini tampak berkembang dengan pesat setelah Murashige dan Skoog (1962) berhasil dalam percobaannya dalam tanaman tembakau. Setelah itu banyak tanaman hortikultura di perbanyak secara massal oleh para peneliti (Gunawan, 1990).

Melalui kultur jaringan, sedikit jaringan tumbuhan diambil lalu ditumbuhkan kedalam media buatan sehingga tumbuh menjadi tanaman yang sempurna. Kultur jaringan berdasarkan pada prinsip yang di sebut totipotensi. Menurut prinsip itu, sebuah sel atau jaringan tumbuhan, yang diambil dari bagian manapun, akan dapat tumbuh menjadi bagian yang sempurna kalau diletakkan pada media yang cocok. Untuk keperluan kultur jaringan diperlukan media yang terdiri atas campuran berbagai garam mineral, asam amino, gula, vitamin, dan hormon tumbuhan. Untuk membuat media padat, bahan tersebut di campur dengan agar. Sedangkan untuk medium cair, bahan bahan dilarutkan kedalam air (Rahardja, 1991).

Perbanyak tanaman melalui kultur jaringan pucuk telah banyak digunakan dengan dua cara yaitu melalui kultur pucuk (shoot tip culture) dan melalui kultur mata tunas (single node culture) (Wattimena, 1991). Kultur jaringan dapat memberikan hasil yang baik dalam upaya perbanyak tanaman langka atau secara alamiah sulit berkembang biak. Perbanyak dengan metoda ini memberikan banyak keuntungan antara lain, teknik ini dapat digunakan untuk menyimpan dan melestarikan tanaman langka yang hampir musnah, melestarikan tanaman yang tidak dapat menghasilkan biji, mendapatkan tanaman yang bebas penyakit, pemakaian ruangan yang hemat (Wattimena, 1989).



Manfaat utama kultur jaringan adalah menghasilkan tanaman baru dalam jumlah besar dalam waktu singkat, dengan sifat dan kualitas yang sama dengan induk. Tanaman unggul atau tanaman yang telah diketahui kebaikan sifatnya, kalau diperbanyak dengan biji dapat menghasilkan tanaman baru yang sifatnya belum tentu sama dengan induknya. Melalui perbanyakan vegetatif yang lazim seperti cangkok dan okulasi memerlukan tenaga dan waktu yang cukup banyak. Jumlah bibit yang dihasilkan dalam jangka waktu tertentu juga sangat terbatas. Untuk mengatasi hambatan tersebut, dipakai perbanyakan vegetatif buatan dengan cara kultur jaringan (Rahardja,1991).

Keberhasilan kultur jaringan pada dasarnya ditentukan oleh faktor endogen dan eksogen. Faktor endogen seperti usia eksplan yang digunakan faktor genetik dan bebasnya tanaman dari penyakit. Faktor eksogen seperti komposisi media, temperature, cahaya, pH dan zat yang ditambahkan (Hartman dan Kester, 1996).

Keberhasilan dalam teknologi serta penggunaan metode *in vitro* terutama disebabkan pengetahuan yang lebih baik tentang kebutuhan hara sel dan jaringan yang dikulturkan. Hara terdiri dari komponen yang utama dan komponen tambahan. Komponen utama meliputi garam mineral, sumber karbon (gula), vitamin dan pengatur tumbuh. Komponen lain seperti senyawa nitrogen organik, metabolit dan ekstra tambahan tidak mutlak, tetapi dapat menguntungkan ketahanan sel dan perbanyakannya (Wetter dan Constabel,1991).

2.3 Enkapsulasi dan Biji Sintetik

Teknologi kultur *in vitro* merupakan teknologi yang terbukti mampu memproduksi bibit dalam jumlah besar, seragam dan tidak terbatas musim. Perbanyakan secara *in vitro* identik dengan perbanyakan secara vegetatif. Penguasaan teknik embriogenesis somatik membuka peluang bagi pengembangan benih sintetik yang berperilaku

menyerupai benih zigotik dan dapat disimpan dalam waktu relatif lama. Teknologi benih sintetik memberikan banyak keuntungan secara skala ekonomis untuk pengembangan tanaman budidaya (Arisanti, 2011).

Enkapsulasi merupakan teknologi yang dapat diaplikasikan untuk menghasilkan biji sintetik. Biji sintetik didefinisikan sebagai embriosomatik yang terselubung yang dianalogikan sebagai benih zigotik. Konsep yang mendasari timbulnya teknologi pembuatan biji sintetik adalah sifat embriosomatik yang sangat lemah menyebabkan embrio tidak dapat langsung di tanam ke lapangan atau di simpan seperti benih zigotik pada umumnya (Redenbaugh, 1992). Menurut Maruyama *et al* (1997) biji sintetik memiliki beberapa keuntungan yaitu metoda propagasi dengan skala besar, mempertahankan keragaman genetik tumbuhan, penanganan alat dan bahan kultur yang mudah, langsung penanaman hasil propagasi ke tanah dengan menghilangkan proses pemindahan dan tahapan aklimatisasi, penghematan siklus keturunan, penghematan tempat selama penyimpanan dan multiplikasi tanaman yang sangat cepat.

Teknologi ini juga dapat berguna untuk menggandakan tanaman yang direkayasa secara genetik (tanaman transgenik), hibrida somatis dan cytoplasmic (yang didapatkan melalui teknik fusi protoplas). Selain itu, benih sintetik dapat berguna untuk pemeliharaan genotipe khusus yang diinginkan (cryopreservation). Juga berguna sebagai alat untuk penelitian percobaan mempelajari proses zygotic embryogenesis dan memahami role dari endosperm dalam perkembangan embrio normal dan perkecambahan. Benih sintetik mampu disimpan dalam jangka waktu yang cukup lama tanpa kehilangan viabilitasnya, memudahkan dalam transportasi dan mudah dikemas pada saat penyimpanan (Arisanti, 2011).

Teknik enkapsulasi dikembangkan oleh Redenbaugh *et. al.* (1985), dengan cara membungkus embrio somatik dengan natrium alginat yaitu sejenis gel yang dapat diperkaya dengan hara, zat pengatur tumbuh. Faktor-faktor yang

mempengaruhi keberhasilan teknologi benih sintetis antara lain; benih sintetis mampu membuat sistem embrio somatik yang dapat tumbuh, keseragaman perkembangan embrio somatik, penggunaan komponen kapsulasi yang tidak toksik, viabilitas embrio yang tetap tinggi setelah proses penyimpanan dan pertumbuhan embrio somatik dalam kapsul setelah aklimatisasi (Arisanti, 2011).

Alginat merupakan hidrokoloid alami yang berasal dari ekstrak ganggang cokelat yang secara taksonomi dikelompokkan ke dalam divisi *Thallophyta*, kelas *Phaeophyceae* (alga cokelat), spesies *Laminaria*. Ekstrak asam alginat dari ganggang cokelat dikonversi menjadi garam natrium alginat. Natrium alginat termasuk salah satu koloid alami berbentuk garam monovalen yang larut dalam air. Alginat dalam bentuk garam natrium-alginat mudah didapatkan, murah, bersifat biokompatibel, tidak beracun, dan tidak karsinogen. (Nova, 2008).

Alginat merupakan polisakarida linear yang terdiri atas monomer-monomer asam $\beta(1\rightarrow4)$ -D-manuronat (M) dan asam $\alpha(1\rightarrow4)$ -L-guluronat (G). Proses pembuatan kapsul menggunakan alginat berlangsung pada kondisi yang lembut sehingga tidak merusak bahan yang disalutnya. Kelebihan tersebut memungkinkan alginat digunakan dalam enkapsulasi senyawa aktif sehingga banyak digunakan dalam industri makanan dan industri farmasi sebagai matriks penyalutan dalam proses enkapsulasi. Senyawa aktif yang disalut, misalnya hormon insulin, obat metronidazol, hemoglobin, maupun bakteri hidup tanpa kehilangan aktivitas biologisnya (Nova, 2008).

2.4 Zat Pengatur Tumbuh

Dari sekian banyak jenis media dasar yang digunakan dalam teknik kultur jaringan, tampaknya media MS (Murashige dan Skoog) mengandung jumlah hara organik yang layak untuk memenuhi kebutuhan banyak jenis sel tanaman dalam kultur

(Gunawan, 1990 *cit* Chatimatun,2005). Dalam kultur jaringan, dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin (Gunawan, 1990). NAA (Naftaleine Asetat Acid) adalah zat pengatur tumbuh yang tergolong auksin. Pengaruh auksin terhadap perkembangan sel menunjukkan bahwa auksin dapat meningkatkan sintesa protein. Dengan adanya kenaikan sintesa protein, maka dapat digunakan sebagai sumber tenaga dalam pertumbuhan. Adapun kinetin (6-furfury amino purine) tergolong zat pengatur tumbuh dalam kelompok sitokinin. Kinetin adalah kelompok sitokinin yang berfungsi untuk pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Dalam pertumbuhan jaringan, sitokinin bersama-sama dengan auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap deferensiasi jaringan (Chatimatun, 2005).

Menurut George dan Sherrington (1984), disamping auksin, sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang penting dalam kultur jaringan. Sitokinin berperan dalam pembelahan sel, yakni dalam mengatur pembentukan benang benang spindle. Benang benang spindle ini berfungsi menarik kromosom dari equator ke arah kutub yang berlawanan pada akhir metaphase.

Konsentrasi relatif sitokinin dan auksin yang ditambahkan kedalam medium akan menentukan ekspresi gen yang mengatur organogenesis namun penumbuhan ini harus disesuaikan dengan konsentrasi auksin dan sitokinin yang telah ada di dalam sel yang menentukan pembentukan organ dari kalus. Oleh karena itu keseimbangan konsentrasi sitokinin dan auksin yang sudah ada didalam jaringan dan yang ditambahkan kedalam medium sesuai untuk terjadinya ekspresi gen yang mengatur pembentukan organ (Doods dan Roberts, 1982)



III. PELAKSANAAN PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Desember 2011 sampai Bulan Februari 2012 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Kultur Jaringan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas.

3.2 Metode Penelitian

Penelitian akan dilakukan dengan metode eksperimen yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 10 ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah penyimpanan biji sintetis pada suhu yang berbeda yaitu :

- A. 4-6°C
- B. 14-16°C
- C. 23-25°C

3.3 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah tunas Andalas (*Morus macraura* Miq.) hasil kultur *in vitro*, bahan kimia untuk media Murashige Skoog (MS) yang terdiri dari unsur mikro dan makro, sukrosa, Natrium Alginat 4%, 50 mM CaCl₂.2H₂O, alkohol 70%, alkohol 90 %, byclin, spritus, kertas, tisu gulung, dan aquadest steril.

Alat yang digunakan : Laminar Air Flow Cabinet (LAFC), autoklaf, Beker glass, kertas pH, aluminium foil, karet gelang, scapel, pinset, botol kultur, Petridish, gelas ukur, stoma, tisu gulung, sprayer, plastic kaca, magnetic stirrer, lampu ultraviolet (UV), keranjang botol, label tempel, silet, selotip besar dan kecil, bunsen, gunting, korek api dan alat tulis.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi dilakukan pada semua alat-alat yang akan digunakan. Botol kultur di cuci dengan detergen kemudian dibilas sampai bersih, selanjutnya direndam dalam bayclin selama satu malam kemudian dikeringkan. Botol yang telah kering di autoclaf selama 15 menit pada tekanan 15 lbs dengan temperature 121 derajat C. Selain botol kultur, sterilisasi yang sama juga dilakukan pada alat-alat yang akan digunakan seperti pinset, pisau scapel, kerta penutup botol, aluminium foil, kertas saring dengan menggunakan stoma.

3.4.2 Persiapan Enkapsulasi

Sebelum memulai pembuatan media tanam terlebih dahulu harus disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan dalam pembuatan media tanam. Masukkan aquadest dan unsur hara lainnya untuk membuat medium MS tanpa agar kemudian dicampurkan dengan Natrium alginat pada konsentrasi 4% kemudian ditambahkan hormon IBA 2 mg/l pada masing-masing media tanam, larutan tersebut diaduk dengan magnetik stirrer hingga semuanya terlarut. Ukur pH larutan 5,8. Jika kurang dari pH yang diinginkan maka ditambahkan larutan basa tetapi jika pH berlebih maka ditambahkan larutan asam untuk mendapatkan pH yang diinginkan. Selanjutnya pembuatan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dengan konsentrasi 50 mM yang dilarutkan dengan aquadest steril. Semua media yang telah dibuat di autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit.

3.4.3 Penyediaan eksplan

Planlet didapatkan dari perbanyakan kultur tanaman Andalas yang di perbanyak di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Kultur Jaringan Biologi FMIPA Unand.

Letakkan eksplan diatas kertas saring. Jepit batang eksplan pada bagian pangkalnya dan gunakan scapel untuk memotong bagian tunas aksilarnya. Masukkan potongan tunas aksilar tersebut kedalam petridish yang sudah dialasi oleh kertas saring steril.

3.4.4 Penyalutan atau Enkapsulasi

Semua alat dan bahan yang akan digunakan termasuk eksplan dan media diletakan di dalam laminar air flow, kemudian dipanaskan pinset beberapa saat di atas lampu spritus agar steril, dengan menggunakan pinset steril, dimasukkan semua eksplan yang telah disiapkan kedalam media MS cair yang sudah mengandung Natrium alginat 4% dengan IBA 2 mg/l (Bekheet, 2006). Dengan menggunakan pipet tetes, diambil satu butir eksplan, lalu diteteskan ke dalam larutan 50 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ secara perlahan-lahan. Diamkan butiran/tetesan didalam larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ selama 30 menit dengan dishaker 80 rpm hingga membentuk kapsul yang utuh, setelah itu dibilas dengan aqudest steril sebanyak tiga kali (Daud, Taha dan Hasbullah, 2008).

3.4.5 Penyimpanan kapsul eksplan

Eksplan yang telah berbentuk biji sintetik di masukkan ke dalam botol kemudian disimpan ditempat gelap selama satu bulan. Tiap botol berisi dua kapsul kemudian di tutup dengan lakban. Botol yang telah berisi kapsul eksplan tadi di inkubasi selama satu bulan pada suhu sesuai perlakuan.

3.4.6 Pengujian daya regenerasi eksplan

Dengan menggunakan pinset steril, ambil satu persatu kapsul tersebut, lalu dipindahkan ke dalam botol media dasar perakaran MS $\frac{1}{2}$ dan 1 g/l charcoal, dilakukan secara aseptik. Botol kultur ditutup dengan menggunakan lakban

kemudian disimpan dalam ruang kultur sampai tunas dapat menembus kapsul dan tumbuh di medium perbanyakan.

3.5 Pengamatan

3.5.1 Bentuk kapsul setelah penyimpanan

Pengamatan bentuk kapsul setelah penyimpanan dilakukan secara visual dengan menjelaskan bentuk dari kapsul tersebut pada akhir pengamatan.

3.5.2 Waktu muncul tunas di kapsul

Pengamatan ini dilakukan pada hari pertama muncul tunas sampai akhir pengamatan (minggu ke-4) pada masing- masing perlakuan.

3.5.3 Persentase eksplan yang bertunas

Persentase eksplan yang membentuk tunas diamati pada akhir pengamatan (minggu ke-4) dengan rumus :

$$\% \text{ eksplan yang bertunas} = \frac{\text{jumlah eksplan yang menembus tunas}}{\text{Jumlah ulangan}} \times 100\%$$

3.5.4 Panjang tunas dan jumlah daun

Panjang tunas dan jumlah daun dihitung pada pada akhir pengamatan (minggu ke-4) pada masing-masing perlakuan.

3.5.5 Waktu muncul akar, jumlah akar dan panjang akar

Pengamatan ini dilakukan pada hari pertama muncul akar sampai akhir pengamatan (minggu ke-4) pada masing-masing perlakuan.

3.6 Analisa Data

Analisa data dilakukan dengan analisa deskripsi terhadap pengamatan bentuk kapsul, waktu munculnya tunas, persentase eksplan yang bertunas, panjang tunas, jumlah daun, waktu muncul akar, jumlah akar dan panjang akar.



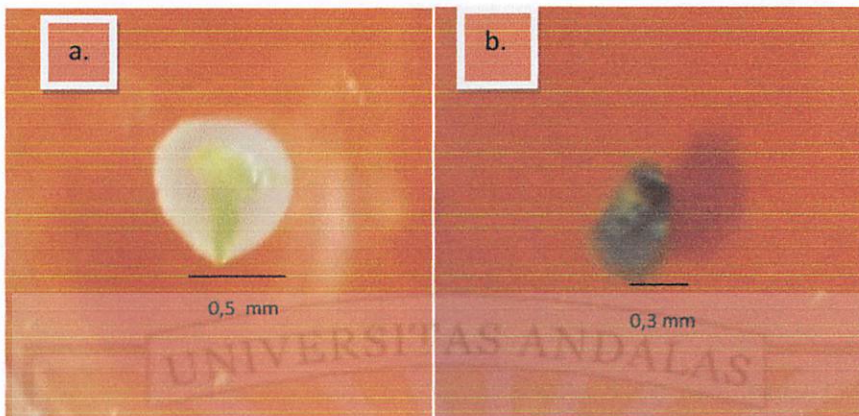
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian yang telah dilakukan untuk mengetahui suhu terbaik terhadap penyimpanan tanaman Andalas (*Morus macroura* Miq.) yang di enkapsulasi maka diperoleh beberapa respon perkecambahan benih sintetis Andalas. Setelah pengujian daya regenerasi selama satu bulan didapatkan data mengenai bentuk kapsul setelah penyimpanan, waktu muncul tunas, persentase eksplan yang bertunas, panjang tunas dan jumlah daun. Adapun hasil yang diperoleh sebagai berikut:

4.1 Bentuk kapsul setelah penyimpanan

Pada penelitian ini semua benih sintetis pada awal perlakuan menggunakan 4 % natrium alginat dan 50 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ karena menurut Pratiwi (2010) bahwa konsentrasi terbaik dalam membentuk kapsul untuk benih sintetis tunas Andalas adalah 4 % natrium alginat dan 50 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Pada konsentrasi ini bentuk dan struktur kapsul yang terbentuk secara morfologinya seragam, isodiametrik, padat dan bentuknya lebih kokoh sehingga bentuk dari semua perlakuan benih sintetis sama.

Setelah dilakukan penyimpanan benih sintetis Andalas selama satu bulan pada suhu yang berbeda maka didapatkan hasil berupa bentuk kapsul yang berbeda antara penyimpanan pada suhu rendah dan suhu tinggi. Pengamatan bentuk dan struktur benih sintetis Andalas setelah penyimpanan pada suhu yang berbeda selama satu bulan dapat dilihat pada Gambar 1. dibawah ini:



Gambar 1. Perbandingan bentuk dan warna benih sintetis setelah penyimpanan pada berbagai suhu

Keterangan: a. Benih sintetis pada suhu rendah
b. Benih sintetis pada suhu tinggi

Pada Gambar 1. dapat dilihat perbedaan antara benih sintetis Andalas setelah disimpan pada suhu yang berbeda selama satu bulan. Setelah penyimpanan suhu 4 °C benih sintetis memiliki eksplan yang masih tetap berwarna hijau, dengan selubung (coat) yang masih putih dan bening, sementara benih pada perlakuan suhu 14 °C dan 23 °C memiliki eksplan yang berwarna coklat dengan selubung (coat) yang memudar bahkan mengkerut. Pada kelembaban yang rendah, eksplan akan cenderung memperlambat proses metabolismenya sehingga juga akan memperlambat proses respirasi, hal ini nantinya akan mempengaruhi proses perombakan karbohidrat dan protein sehingga dapat digunakan dalam jangka waktu yang panjang sampai pada kondisi yang memungkinkan eksplan untuk tumbuh. Pada penyimpanan suhu dingin eksplan juga akan cenderung memperlambat mekanisme kerja enzim yang berfungsi sebagai biokatalisator sehingga dapat memperlambat proses perombakan karbohidrat sehingga eksplan mampu bertahan hidup.

Menurut Stein (2010) dengan menempatkan benih pada lingkungan dingin selama beberapa minggu dan kemudian menempatkan benih tersebut pada suhu yang hangat maka akan mempercepat proses perkecambahan benih tersebut. Proses kimia

yang memungkinkan ketika radikula tumbuh ke bawah dan daun embrionik tumbuh lebih cepat pada kondisi hangat sehingga perkecambahan dipicu ketika suhu meningkat. Yoshimatsu, Yamaguchi, Shimomura (1996) juga menyatakan bahwa metode penyimpanan benih sintetik pada suhu dingin akan memperlambat metabolisme dan mencegah variasi somaklonal. Embrio somatik yang disimpan dalam kondisi yang tidak baik akan mati dalam dua minggu. Sebaliknya embrio akan mampu berkecambah dengan baik jika disimpan di suhu dingin.

Sementara pada suhu tinggi benih sintetik Andalas lebih cenderung mengalami penurunan viabilitas, hal ini bisa dilihat pada perubahan warna benih sintetik dari kehijauan menjadi agak kecoklatan dan warna selubung kapsul (coat) yang awalnya padat, berwarna putih kemudian mengalami pengerutan. Perubahan warna benih sintetik Andalas bisa saja disebabkan karena adanya metabolit sekunder berupa fenol yang keluar dari jaringan eksplan, karena eksplan mengalami stress atau cekaman. Sementara mengerutnya selubung kapsul disebabkan karena rendahnya toleransi natrium alginat pada suhu yang tinggi sehingga air pada selubung kapsul lebih banyak yang menguap dibandingkan dengan air yang diserap oleh eksplan. Hal ini tentu akan menyebabkan selubung kapsul terdehidrasi dan eksplan kekurangan air dan nutrisi makanan, pada akhirnya eksplan akan mengalami penurunan viabilitas bahkan mati.

Ekplan yang mengalami perubahan warna menjadi kecoklatan diduga karena ada pengaruh senyawa hasil proses oksidasi fenol didalam jaringan eksplan karena eksplan mengalami cekaman. Menurut Santoso dan Nursandi (2002) perubahan warna eksplan terjadi disebabkan adanya *browning* (pencoklatan) yang disebabkan karena adanya reaksi enzimatik yang mengarah pada pembentukan senyawa fenol. Pada beberapa kasus, terdapat beberapa spesies yang sangat tidak toleran terhadap gas etilen. Menurut Ikhlaiq *et. al.* (2010) pada keadaan stress jaringan tanaman akan

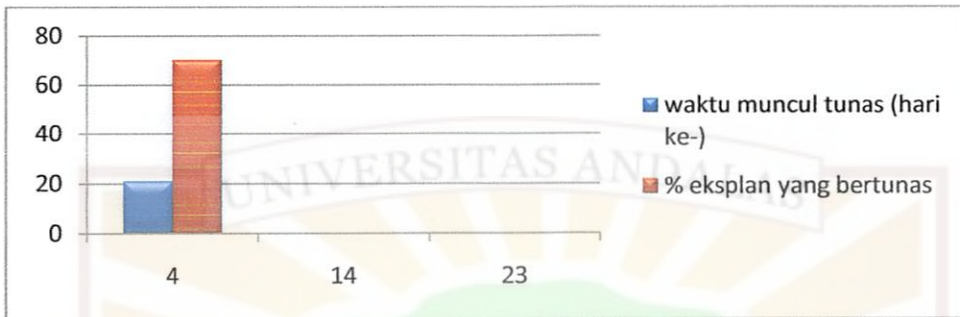
mengumpulkan etilen didalam jaringan pembuluh yang nantinya akan menghambat pertumbuhan. Selain itu Gasper, Kever, Penel, Greppin, Reid, Thorpe (1996) juga mengatakan bahwa etilen bertindak sebagai inhibitor pertumbuhan dan menghambat sintesis DNA dan pembelahan sel dimeristem.

Menurut Suseno (2000) Gejala gejala kemunduran fisiologi dari benih diantaranya perubahan warna benih, mundurnya perkecambahan, mundurnya toleransi terhadap keadaan keadaan yang kurang optimal pada waktu berkecambah, mundurnya toleransi terhadap penyimpanan yang kurang baik dan mundurnya daya perkecambahan. Secara teori pertumbuhan yang tertinggi dapat dicapai pada keadaan yang memungkinkan adanya interaksi yang menguntungkan antara sifat genetik benih dan lingkungan dimana benih tersebut disimpan. Penyimpanan yang kurang baik akan menurunkan viabilitas benih tersebut yang nantinya akan menyebabkan kematian pada benih tersebut.

4.2 Waktu Munculnya Tunas dan Persentase Ekplan yang Bertunas

Adapun respon perkecambahan benih sintetik Andalas yang bisa diamati lagi adalah waktu muncul tunas dan persentase eksplan yang bertunas setelah pengujian daya regenerasi selama satu bulan. Waktu muncul tunas diamati pada awal muncul tunas sampai pada akhir pengamatan. Sementara persentase eksplan yang bertunas diperoleh dengan menghitung jumlah eksplan yang menembus kapsul dibagi jumlah seluruh ulangan. Pengamatan waktu munculnya tunas dan persentase eksplan yang bertunas dari benih sintetik Andalas yang disimpan pada berbagai suhu penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 1 berikut:

Grafik 1. Waktu muncul tunas Andalas menembus kapsul dan persentase eksplan yang bertunas setelah 1 bulan pengujian daya regenerasi pada setiap perlakuan (lampiran 2)



Pada Grafik 1. dapat dilihat bahwa pada perlakuan suhu 4 °C rata rata tunas muncul pada hari ke 21 dengan persentase eksplan yang menembus kapsul sebesar 70 %. Sementara pada perlakuan suhu 14°C dan 23°C benih sintetik Andalas tidak mampu memberikan respon perkecambahan. Hal ini menunjukkan bahwa 4 °C merupakan suhu terbaik untuk penyimpanan benih sintetik Andalas karena tunas mampu berkecambah dengan baik pada suhu tersebut. Kamareddi (2008) mengatakan bahwa *Morus indica* hasil enkapsulasi mampu bertahan selama 30 hari pada penyimpan suhu 5 °C dengan persentase perkecambahan sebesar 55 %. Hal yang sama juga disampaikan Bapat *et. al.* (1987) bahwa benih sintetik *Morus indica* dapat disimpan pada suhu 4 °C selama 45 hari tanpa kehilangan viabilitasnya dan mampu berkecambah dengan baik jika diregenerasikan pada media yang tepat.

Tingginya kemampuan perkecambahan eksplan setelah disimpan pada suhu 4 °C bisa saja disebabkan karena pada awal sampai pada akhir penyimpanan eksplan lebih cenderung mempertahankan viabilitasnya dengan memperlambat proses respirasi hingga pada kondisi yang memungkinkan eksplan untuk tumbuh.pada penyimpanan suhu rendah eksplan tetap berwarna hijau yang menandakan bahwa eksplan tersebut tetap meristematik dan efisien untuk tumbuh membentuk tunas baru. Sementara ketidakmampuan kapsul lain untuk berkecambah disebabkan karena kesulitan

eksplan dalam menembus permukaan luar dari kapsul sehingga menghambat proses respirasi eksplan oleh selubung kapsul.

Pada suhu 14°C dan 23°C tidak ada satupun benih sintetik yang mampu bertahan hidup pada saat penyimpanan. Hal ini disebabkan karena ketidakcocokan suhu penyimpanan yang diberikan sehingga menyebabkan eksplan tidak mampu bertahan hidup dan cepat kehilangan viabilitasnya. Pada perlakuan 23°C tunas mengalami perubahan warna menjadi kecoklatan yang menandakan bahwa tunas tersebut telah mati ketika masa penyimpanan. Menurut Kamareddi (2008) mengatakan bahwa tunas aksilar murbei yang kecoklatan tidak menunjukkan tanda tanda pertumbuhan setelah 30 hari ditanam. Hal yang sama juga diungkapkan oleh Ohyama (1970) bahwa tunas kecoklatan murbei tidak akan menunjukkan tanda pertumbuhan, sedangkan tunas yang kehijauan akan efisien untuk cepat tumbuh.

Menurut Suseno (2000) benih benih yang disimpan pada temperatur yang tinggi akan cepat kehilangan viabilitasnya. Pada keadaan ini didalam benih terus terjadi perombakan karbohidrat untuk bernafas dan akan mengakibatkan berkurangnya persediaan makanan selama penyimpanan. Eksplan akan kesulitan ketika melakukan respirasi yang pada akhirnya akan menyebabkan kematian eksplan tersebut. Menurut Ding, Chachin, Hamauzi dan Ueda (1998) menyatakan bahwa selama penyimpanan, cadangan karbohidrat akan menurun dengan cepat dan tingkat kerusakan eksplan akan meningkat.

Sementara benih sintetik mengalami pengerutan pada suhu tinggi disebabkan karena kapsul telah terdehidrasi sehingga sulit bertahan hidup selama masa penyimpanan sehingga tidak mampu memberikan respon perkecambahan. Hal ini disebabkan karena rendahnya toleransi kapsul pembungkus eksplan itu sendiri terhadap suhu penyimpanan. Menurut Nievis, Martinez, Castillo (2001) benih sintetik yang terdehidrasi sulit untuk bertahan hidup karena akan menghabiskan

banyak nutrisi yang mengakibatkan rendahnya persentase perkecambahan. Menurut Ara, Jaiswal dan Jaiswal (2000) kapsul kalsium alginat sangat sulit untuk melindungi eksplan dari kekeringan karena kalsium alginat cepat kehilangan air dan kering kecuali apabila disimpan dilingkungan yang lembab atau dilapisi dengan membran hidrofobik. Jika kapsul telah mengering dan tidak memiliki air tentunya akan menyebabkan kematian pada embrio, karena sumber energi yang dibutuhkan embrio untuk berespirasi sudah tidak ada lagi.

Menurut Ara *et. al.* (2000) mengatakan meskipun teknologi benih sintetis tampaknya menjanjikan untuk penyebaran sejumlah spesies tanaman tetapi memiliki keterbatasan diantaranya kurangnya dormansi dan toleransi stress didalam embrio somatik yang nantinya akan membatasi penyimpanan benih sintetis. Pada beberapa spesies, benih sintetis sangat rentan terhadap kekeringan yang akan menyebabkan kerusakan eksplan dan menghambat perkecambahan eksplan. Menurut Thobunluepop, Puwelzik dan Vearasilip (2009) tidak seperti zigotik, benih sintetis tidak menumpuk cadangan makanan, tidak mengembangkan toleransi terhadap kekeringan, hanya dapat disimpan dalam waktu yang terbatas, berkembang dan muncul melalui kapsul dan proses metabolisme dapat diperlambat dengan penurunan suhu.

4.3 Panjang Tunas dan jumlah daun

Pengamatan panjang tunas dan jumlah daun dilakukan dengan menggunakan kertas millimeter. Pengukuran dilakukan pada akhir pengamatan dengan mengukur seluruh panjang tunas dari awal sampai akhir pengujian daya regenerasi. Pengamatan panjang tunas dan jumlah daun dari benih sintetis Andalas yang disimpan pada berbagai suhu penyimpanan dapat dilihat pada tabel 2 berikut:

Tabel 1. Panjang tunas Andalas setelah 1 bulan pengujian daya regenerasi pada setiap perlakuan (lampiran 2)

| Perlakuan | Rata -rata panjang tunas (mm) | rata- rata jumlah |
|-----------|-------------------------------|-------------------|
| daun | | |
| A (4°C) | 2 | 2 |
| B (14°C) | - | - |
| C (23°C) | - | - |

Pada Tabel 1. dapat dilihat pada perlakuan 4°C bahwa rata rata tunas memiliki panjang tunas sebesar 2 mm dengan rata rata jumlah daun 2 mm. Sementara pada perlakuan 14°C dan 23°C tidak ada tunas dan daun yang mampu tumbuh. Menurut Hartman (2007) kondisi yang lembab akan menyebabkan banyak air yang diserap oleh benih dan lebih sedikit yang diuapkan. Hal tersebut mendukung aktivitas pemanjangan sel sel dan kecepatan pertunasan kecambah. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa pertumbuhan tunas akan lebih cepat dibandingkan pertumbuhan akar. Hal ini terjadi karena sumber nutrisi yang dibutuhkan eksplan lebih banyak dikonsumsi oleh tunas dari pada akar sehingga nantinya akan mempercepat pertumbuhan tunas dan menghambat pertumbuhan akar (Nower, 2007).

Sedikitnya daun yang tumbuh disebabkan karena waktu yang dibutuhkan kecambah tidak mencukupi untuk memperoleh daun terbanyak. Menurut Hosein, Rahman, Jooder, Islam (1992) mengatakan bahwa daun akan berkembang dengan baik setelah 3 minggu masa perkecambahan. Menurut Kamareddi (2008) panjang tunas dan jumlah daun tertinggi pada benih sintetik murbei dapat diperoleh dengan penambahan 0,5/L BAP dengan panjang tunas tertinggi 4,12 cm dalam waktu 2 bulan.

Menurut McDonal (1986) suhu sangat memberi pengaruh terhadap perkecambahan benih yakni mempengaruhi kecepatan proses permulaan perkecambahan yang meliputi penyerapan air, hidrolisa makanan cadangan,

mobilisasi makanan, asimilasi, respirasi dan pertumbuhan benih sebagai tahap akhir dari perkecambahan. Dalam hal mempengaruhi perkecambahan benih, suhu ini mempunyai interaksi dan ditentukan pula oleh beberapa faktor lain yaitu sifat dormansi benih, cahaya, dan zat tumbuh giberelin. Perkecambahan beberapa jenis benih yang mempunyai sifat dormansi dapat dinaikkan dengan suhu rendah. Gibberellic Acid (GA) adalah suatu zat tumbuh utama (*key hormone in the germination process*) yang memegang peranan penting di dalam proses perkecambahan benih.

4.4 Waktu muncul akar, jumlah akar dan panjang akar

Pada penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa tidak ada akar yang muncul pada eksplan. Hal ini disebabkan karena waktu perkecambahan yang terlalu singkat sehingga eksplan belum mampu membentuk akar. Sharma dan Thorpe (1990) mengatakan bahwa tunas *in vitro Morus alba* akan tumbuh pada medium perakaran lebih dari empat minggu.

Penyebab lain tidak tumbuh akar karena eksplan yang digunakan berasal dari tunas aksilar. Menurut Warnita (2004), enkapsulasi tunas pucuk dan tunas aksilar sering kali memiliki kendala terhambatnya sistem perakaran tanaman karena tidak memiliki primordial akar seperti halnya embrio somatik. Namun berkurangnya pertumbuhan akar setelah penyimpanan bisa juga disebabkan karena persaingan antara pertumbuhan tunas dengan akar, dimana karbohidrat lebih banyak dikonsumsi oleh tunas yang mengakibatkan keterbatasan pada pertumbuhan akar. Perkembangan akar membutuhkan energi dalam bentuk penyediaan karbohidrat untuk pertumbuhan akar normal (Nower, 2007).

Menurut Ikhlq (2010) telah melakukan penelitian tentang interval penyimpanan (0, 15, 30, 45 dan 60 hari) pada benih sintetik tanaman zaitun menyatakan bahwa respon pertumbuhan akar yang lebih baik terdapat pada

penyimpanan suhu dingin setelah interval hari ke 45 dengan hasil maksimal 1,71 cm dan persentase 28 %. Hal ini disebabkan karena sintesis protein spesifik yang mencapai batas maksimum pada interval hari ke 45 pada penyimpanan 4°C. menurut Davies dan Zhang (1991) akumulasi ABA akan meningkat maksimum penyimpanan hari ke 45. Eksplan pada suhu rendah akan meningkatkan akumulasi ABA yang dapat digunakan sebagai molekul sinyal dalam menstimulasi berbagai proses fisiologis melalui ekspresi gen.

Respon pertumbuhan lebih baik ketika disimpan pada suhu dingin karena sintesis endogen co-faktor perakaran sejalan dengan pertumbuhan eksplan. Co-faktor perakaran, morphogen dan rhizocaline dapat merangsang pertumbuhan akar dengan cepat. Sintesis co-faktor perakaran dalam jumlah yang banyak akan memberikan respon yang lebih baik terhadap perakaran. Selain itu co-faktor perakaran sangat penting untuk perakaran karena menggabungkan kofaktor dengan auksin untuk membentuk kompleks yang mengarahkan RNA untuk mengaktifkan enzim yang menyebabkan inisiasi akar (Hartman,2007).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap respon pertumbuhan tunas Andalas (*Morus macraoura* Miq) hasil enkapsulasi pada suhu penyimpanan yang berbeda, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Suhu efektif dalam penyimpanan benih sintetis tunas Andalas adalah 4°C
2. Respon perkecambahan benih sintetis Andalas pada suhu 4°C didapatkan persentase hidup 70 %, dan tinggi tunas 2,5 mm.

5.2 Saran

Untuk selanjutnya disarankan agar menyimpan benih sintetis Andalas yang telah dilapisi senyawa polywax. Diharapkan nantinya benih sintetis Andalas tetap viabilitas pada suhu tinggi. Benih sintetis layak dikembangkan karena teknologi ini menawarkan potensi luar biasa dalam budidaya dan konservasi plasma nutfah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, Nesreen S. H., 2011. The Green Revolution Via Synthetic (Artificial) Seeds. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 7(6): 464-477,
- Anonimous. 2011. *Pohon Andalas* [http//www.](http://www.) Diakses 20 September 2011
- Ara, H., U. Jaiswal and V.S. Jaiswal, 2000. Synthetic seed: Prospect and limitations. *Current Science*. 78: 1438-1444
- Arisanti, Yusie. 2011. *Teknologi dan Produksi Benih Sintetik*. Direktorat Jendral Perkebunan – Kementrian Pertanian: Jakarta.
- Bapat, V. A., Mhatre, M. and Rao, P. S., 1987, Propagation of *Morus indica* (mulberry) by encapsulated shoot buds. *Plant Cell Rep.*, 6 : 393-395.
- Boer, E dan Sosef. 2000. *Timber trees, Lesser Known Timber*. [http//www.org.](http://www.org.) diakses 20 September 2011
- Chatimatun dan Rodinah. 2005. Kultur Jaringan Beberapa Kultivar Buah Pisang (*Musa paradisiaca* L.) dengan pemberian Campuran NAA dan Kinetin. *Jurnal Penelitian Universitas Lambung Mangkurat* 2 (20) : 20-36
- Dahlan, S. 1993. Studi Pendahuluan Pembungaan Pohon Andalas (*Morus macraura* Miq). *Jurnal Penelitian FMIPA* 2 (2) : 9-13
- Dahlan, S. 1994. Mengenal *Morus macraura* Miq Maskot Flora Sumatera Barat. *Jurnal Penelitian Andalas* (15) : 17-20
- 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
- Debojit, K.S., M. Borthakur and P.K. Borua, 2010. Artificial seed production from encapsulated PLBs regenerated from leaf base of *Vanda coerulea* Griff. ex. Lindl. – an endangered orchid. *Current Science*, 98(5): 10.
- Derek, Bewley, J. Black., Michael, Halner, Peter. 2006. *The Encyclopedia of Seeds*. Science, Technology and Uses Cabi Series. Retrieved 2009-08-28
- Ding C. K., Chachin K., Hamauzi Y., Ueda Y. 1998. Effect of storage temperature and physiology and quality of loquat fruit. *Postharvest Biology. Technol.* 14 (5) : 300-315.

- Doods, J. H and L.W. Robert. 1982. *Experiment In Plant Tissue Culture*. Cambridge University Press: Cambridge.
- Fuiji J. A., Slade D., Redenbaugh K. (1993). Planting artificial seed and somatic embryo In: Redenbaugh K (ed.). *Application of synthetic seeds to crop improvement*. CRC press, USA, pp. 183-202.
- Gasper, T., Kevers C., Penel C, Greppin H., Reid DM, Thorpe TA. 1996. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *International Journal*, 32 (5) : 272-289.
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. *Plant Proagation By Tissue Culture*. Handbook and Directory of Commercial Laboratories.
- Gunawan, L.W. 1990. *Kultur Jaringan Tumbuhan*. Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Antar Universitas (PAU) .Bioteknologi IPB: Bogor.
- Gomez, K.A dan A.A. Gomez. 1995. *Prosedur Statistik Untuk Pertanian Edisi Kedua*. Universitas Indonesia: Jakarta.
- Hartmann, H.T. and D.E. Kester. 1996. *Plant Propagation Printice Hall Of India*: New Delhi.
- Hartmann H.T., Kester D.E., Davis F.T., and R.L. Geneve .2007. Principles of Propagation by Cuttings. *Plant Propagation Principles and Practices*. Printice Hall New Dehli, India: p. 297.
- Hossain, M., Rahman, S. M., Zaman, A., Joorder, I. and R. Islam. 1992. Micropropagation of *Morus laevigata* L. from nature tress. *Plant Cell Rep.*, 11(10) : 522-524.
- Huda, A. K. M. N. and Bari M. A. 2007. Production of Synthetic Seed by Enkapsulating Asexual Embryo in Eggplant (*Solanum melongena* L.) *International Journal Of Agricultur Research* 2: 832-837
- Ikhlaq, Muhammad and Ishfaq Ahmad. 2010. In Vitro Storage Of Synthetic Seeds, Effect of Different Storage Conditions and Interval on Their Conversion Ability. *Journal Of Bioteknology* 9 (35) : 5712-5721
- Kamareddi, Santoshkumar. 2008. *Development of Synthetic Seed in Mulberry (Morus indica L.) C.V M-5 Evaluation Under Controlleed Condition*. University Of Agricultural Science: Dharward

- Kavyashree, R, Gayatri, M.C. and Revana Siddaiah, H. M. 2006. Propagation Of Mulberry Variety By Synseed Of Axillary Buds Plant Cell Tiss. *Org. Cult* 84: 245-249
- McDonal, M. B, C. J. Nelson. 1986. *Physiology of Seed Deterioration*. Crop Science Society of America: USA
- Maruyama, E., Kinoshita, Ishii, K., Shigenaga, H., Olibak and Saito A. 1997. Alginat- Enkapsulation Technology For The Propagation Of The Tropical Trees, *Cedrela odorata* L., *Guazama crinite* Mart, *Jacaranda mimosaeifolia* C. *Silvae Genetika* 46 (1) : 17-23
- Mohanraj, R. Ananthan and V.N. Bai, 2009. Production and Storage of Synthetic Seeds in *Coelogyne breviscapa* Lindl. *Asian Journal of Biotechnology* 1: 124-128.
- Nieves N, Martinez ME, Castillo R, Maria Blanco A, Gonzalez-Olmedo JL. 2001. Effect of abscisic acid and jasmonic acid on partial desiccation of encapsulated somatic embryos of sugarcane. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 65: 15-21.
- Nova, Rosalita Y. 2008. *Emulsifikasi untuk Mikroenkapsulasi Propanolol Hidroklorida dengan Penyulut Alginat*. IPB: Bogor.
- Nower, A. Ahmed. 2007. Synthetic Seeds Of Pear (*Pyrus Communis* L.) Rootstock Storage *In Vitro*. *Australian Journal Of Basic And Applied Sciences* 1(3) : 262 - 270
- Ohyama, K. 1970. Tissue culture in mulberry tree. *J. Agric. Res. Quarterly*, 21(3) : 205-210.
- Pratiwi, Putri. 2010. *Respon Pertumbuhan Tunas Andalas (Morus macraura Miq) Hasil Enkapsulasi pada Beberapa Konsentrasi Natrium Alginat dan CaCl₂. 2H₂O*. Skripsi Sarjana Biologi FMIPA UNAND: Padang.
- Pohan, Silvia Dewi. 2006. *Kultur Tanaman Andalas (Morus maqraura Miq) pada Media Secara In Vitro*. Skripsi Sarjana Biologi FMIPA Universitas Andalas: Padang.
- Raharja, P.C. 1991. *Kultur Jaringan Teknik Perbanyakan Tanaman Secara Modern*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Redenbaugh, K., 1992. *Synseeds Applications Of Synthetic Seeds To Crop Improvement*. CDR Press : Boca Raton Florida <http://benihsintetik.blogspot.com>. diakses 20 September 2011

- Saiprasad. 2001. Artificial Seeds and Their Applications. *Article General Resonance*. Hal 39-47
- Santosa, U. dan Nursandi, F. 2002. Kultur Jaringan Tanaman. Malang: Penerbit UMM Press
- Sharma, K. K. and Thorpe, T. A., 1990, *In-vitro* propagation of mulberry (*Morus alba* L.) through nodal segments. *Scientia Horti.*, **42** : 307-320.
- Stein, Sammy. 2010. *Factors That Affect Seed Germination*.[http://seedgermination.blogspot.com/10 November 2011](http://seedgermination.blogspot.com/10-November-2011)
- Suseno, Hari. 2000. *Fisiologi dan Biokimia Kemunduran Benih*. Penerbit IPB: Bogor
- Suwirman, 2007. Produksi Bibit Pohon Andalus (*Morus macraura* Miq.) Secara In vitro Dalam Upaya Pelestarian askot Flora Sumatera Barat. Laporan Akhir Research Grant. *Technological and Professional Skill Development Sector Project (TPSDP) Batch III* : 1- 34
- Syafinah, Raibilan. 1993. Populasi Tumbuhan Andalus (*Morus macraura* Miq) di Kecamatan X Koto Kabupaten Tanah Datar Sumatera Barat. *Journal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNAND* 5 (1) : 7-12
- Thobunluepop, P. E. Pawelzik and S. Vearasilp, 2009. Possibility of Sweet Corn Synthetic Seed Production. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **12**: 1085-1089.
- Wardiyono.2009. *Flora Kita*. [http://www browser](http://www.browser). Diakses 20 September 2011
- Warnita,2004. Pengaruh Poclbutrazol Terhadap Produksi dan Ketahanan Bibit Mikro Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Siap Enkapsulasi. *Jurnal Stigma*. ISSN. 0853-3776, Vol XII No 2
- Wattimena, G.A. 1989. *Bioteknologi tanaman*. Tim Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. IPB : Bogor.
- Wetter L.R dan F Constabel.1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. ITB: Bogor
- Yoshimatsu, K., H. Yamaguchi and K. Shimomura. 1996. Traits of Panax ginseng hairy roots after cold storage and Cryopreservation. *Plant Cell Rep*. **15**: 555-560.

LAMPIRAN 1.

Komposisi Medium Murashige & Skoog (MS)

| No. | Komponen | Jumlah (mg/L) |
|-----|---|---------------|
| 1 | Larutan Stok I | |
| | NH ₄ NO ₃ | 1650,00 |
| | KNO ₃ | 1900,00 |
| | CaCl ₂ .2H ₂ O | 440,00 |
| | MgSO ₄ .7H ₂ O | 370,00 |
| | KH ₂ PO ₄ | 170,00 |
| 2 | Larutan Stok II | |
| | KI | 0,83 |
| | H ₃ BO ₃ | 6,20 |
| | MnSO ₄ .4H ₂ O | 22,30 |
| | ZnSO ₄ .7H ₂ O | 8,60 |
| | Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O | 0,25 |
| | CuSO ₄ .5H ₂ O | 0,025 |
| | CoCl.6H ₂ O | 0,025 |
| 3 | Larutan Stok III | |
| | FeSO ₄ .7H ₂ O | 27,80 |
| | Na ₂ EDTA.2H ₂ O | 37,30 |
| 4 | Larutan Stok IV | |
| | Nicotinic Acid | 0,50 |
| | Pyridoksin HCl | 0,50 |
| | Thiamin HCl | 0,10 |
| | Glysin | 2,00 |
| 5 | Myo-Inositol | 100,00 |
| 6 | Sukrosa | 30 gram |
| 7 | Agar | 7 gram |
| 8 | pH | 5,5-6,0 |

Sumber : George and Sherrington (1984)

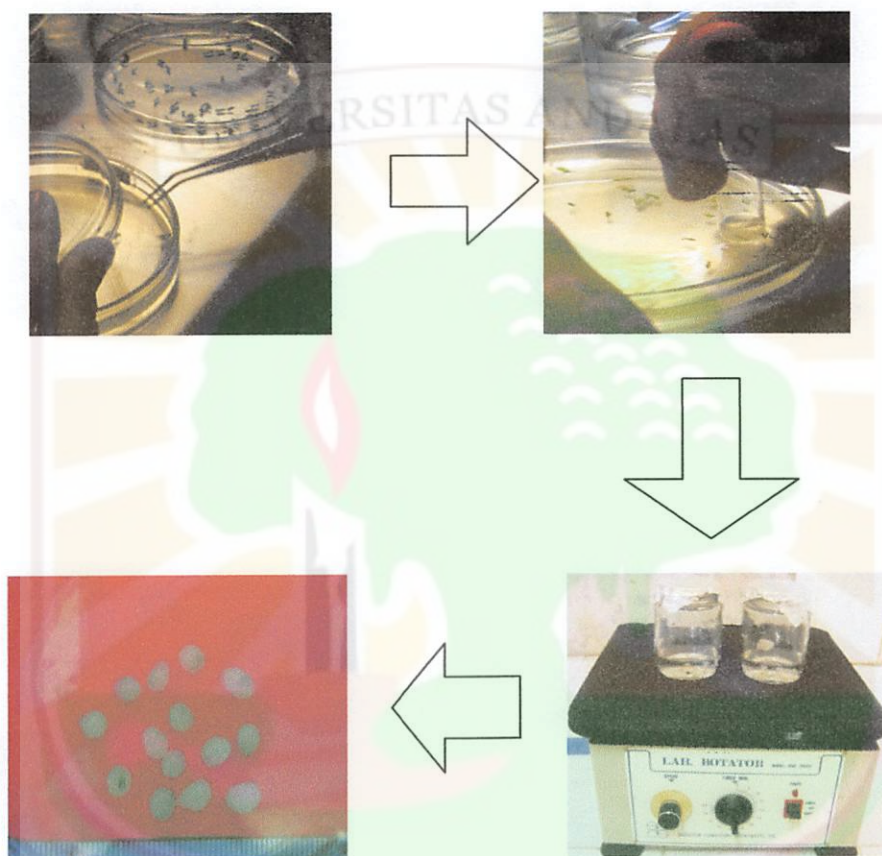
LAMPIRAN II.

Tabel Data Perkecambahan Benih Sintetik Andalas pada Suhu 4°C

| ulangan | Waktu tunas menembus kapsul (hari ke-) | Persentase eksplan yang bertunas (%) | Panjang tunas (mm) | Jumlah daun (helai) | Waktu muncul akar, jumlah akar dan panjang akar |
|-----------|--|--------------------------------------|--------------------|---------------------|---|
| 1 | 18 | 100 | 2,5 | 2 | - |
| 2 | - | - | - | - | - |
| 3 | 20 | 100 | 1,8 | 2 | - |
| 4 | 20 | 100 | 2 | 2 | - |
| 5 | - | - | - | - | - |
| 6 | 21 | 100 | 2,2 | 2 | - |
| 7 | 23 | 100 | 1,9 | 2 | - |
| 8 | 25 | 100 | 2,3 | 2 | - |
| 9 | 20 | 100 | 1,3 | 2 | - |
| 10 | - | - | - | - | - |
| Rata-rata | 21 | 70 % | 2 | 2 | - |

LAMPIRAN III.

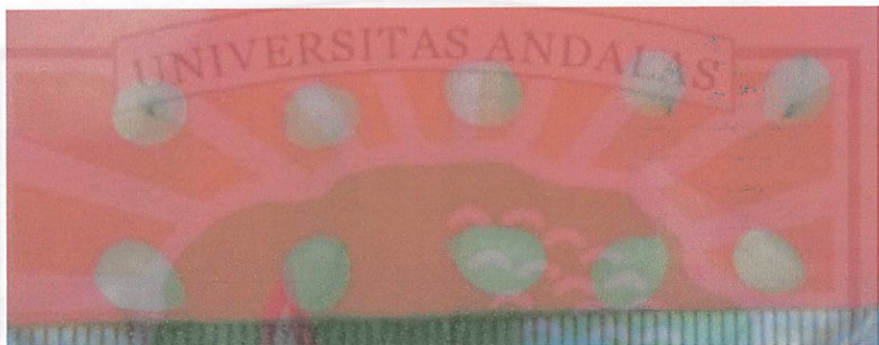
Gambar 1. Proses enkapsulasi Benih Sintetik



LAMPIRAN IV.

Pengamatan Bentuk Kapsul

- a. Gambar 1. Pengamatan bentuk kapsul pada suhu 4°C



- b. Gambar 2. Pengamatan bentuk kapsul pada suhu 14°C



- c. Gambar 3. Pengamatan bentuk kapsul pada suhu 23°C



LAMPIRAN VII.

Gambar 1. Pengukuran hasil akhir daya regenerasi eksplan pada suhu 4 °C setelah 1 bulan dengan menggunakan kertas milimeter

