

Konservasi *In Vitro* Kantong Semar (*Nepenthes rafflesiana* Jack.) dengan Metode *Slow Growth*

In Vitro Conservation of Pitcher Plant (*Nepenthes rafflesiana* Jack.) with *Slow Growth* Method

Hanum Aura Previaningrum¹, Abdul Qadir¹, Yupi Isnaini^{2*}

¹Teknologi Industri Benih, IPB University, Bogor, Indonesia, 16128

²Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya, LIPI, Bogor, Indonesia, 16122

*Alamat e-mail: yupinurfauzi@gmail.com

Abstrak- *Nepenthes rafflesiana* Jack. merupakan tumbuhan unik karena ujung daunnya yang memiliki sulur dengan membentuk kantong untuk merangkap serangga. Keunikannya ini membuat *N. rafflesiana* banyak diambil dari habitat aslinya untuk dijual. Pengambilan dari alam dapat menyebabkan kepunahan dan kerusakan habitat ekosistem. Upaya mencegah kepunahan melalui konservasi *ex situ* dengan kultur *N. rafflesiana* secara *in vitro* dengan metode *slow growth*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh paclobutrazol terhadap pertumbuhan *N. rafflesiana* dan untuk mendapatkan konsentrasi paclobutrazol yang paling sesuai dalam konservasi *in vitro* *N. rafflesiana*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya dari bulan Januari sampai dengan April 2020. Rancangan yang dilakukan dalam percobaan adalah Rancangan Kelompok Lengkap Teracak dengan faktor tunggal yaitu konsentrasi paclobutrazol: 0, 1, 3 dan 5 ppm. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi paclobutrazol terbaik untuk konservasi *in vitro* *N. rafflesiana* adalah 5 ppm yang dapat menghambat pertumbuhan tinggi batang dan jumlah daun serta dapat mempertahankan warna hijau daun.

Kata kunci: konservasi *in vitro*, *Nepenthes rafflesiana* Jack., paclobutrazol, *slow growth*

Abstract – *Nepenthes rafflesiana* Jack. is one of a unique plant because there is the pitcher on the tips of the leaves to trap insects. This uniqueness makes *N. rafflesiana* mostly taken from its natural habitat for sale. Big Explored from nature caused extinction and ecosystem habitats damaged. Efforts to prevent extinction through *ex situ* conservation by *in vitro* culture of *N. rafflesiana* with *slow growth* method. This study aims were to determine the effect of paclobutrazol on the growth of *N. rafflesiana* and to obtain the most suitable concentration of paclobutrazole for *in vitro* conservation of *N. rafflesiana*. The research was conducted at the Tissue Culture Laboratory of the Research Center for Plant Conservation and Botanical Gardens from January to April 2020. The experiment was carried out in a Completely Randomized Group Design with a single factor, namely the concentration of paclobutrazol: 0, 1, 3 and 5 ppm. The results showed that the best concentration of paclobutrazol for *in vitro* conservation of *N. rafflesiana* was 5 ppm which could inhibit the growth of stem height and number of leaves and could maintain the green color of the leaves.

Keywords: *in vitro* conservation, *Nepenthes rafflesiana* Jack., paclobutrazol, *slow growth*

© 2021 Jurnal Jejaring Matematika dan Sains. This work is licensed under a [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

PENDAHULUAN

Kantong semar merupakan tumbuhan karnivora yang umumnya hidup di tanah (terrestrial), tetapi ada juga yang menempel pada batang atau ranting pohon lain sebagai epifit. Tumbuhan ini salah satu spesiesnya yaitu *Nepenthes rafflesiana* Jack. hanya dapat ditemukan di bagian selatan Kalimantan, selatan Sumatera, semenanjung Malaysia, dan Singapura [1]. Spesies ini banyak diminati pecinta tanaman hias untuk dikoleksi karena keunikannya yaitu memiliki daun yang berevolusi membentuk kantong. Fungsi kantong tersebut untuk pemenuhan nutrisinya dengan menarik, menjebak, dan mencerna mangsa (hewan atau serasah) yang masuk ke dalam kantong [1]. Keunikannya ini yang membuat *Nepenthes rafflesiana* banyak diambil langsung dari habitat aslinya untuk dijual, padahal jenis ini termasuk dalam Appendix II Convention on International

Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora [2]. Status spesies ini secara global berdasarkan IUCN Redlist pada bulan November 2014 yaitu *Least Concern* (LC) [3].

Perbanyakan kantong semar secara konvensional umumnya dilakukan baik menggunakan biji maupun setek, sedangkan untuk perbanyakan secara *in vitro*, bahan yang digunakan masih terbatas menggunakan biji [4]. Untuk menjaga spesies ini agar tidak punah, perlu dilakukan upaya konservasi *ex situ*, termasuk secara *in vitro*. Menjaga koleksi di lingkungan aseptik dan kondisi lingkungan yang memadai bisa dilakukan dengan dua cara. Cara pertama yaitu konservasi tumbuhan tanpa mengganggu pertumbuhannya yaitu dengan cara memindahkan tanaman dengan subkultur ke media pertumbuhan yang baru dan cara kedua yaitu konservasi dengan kondisi *slow growth* atau pertumbuhan lambat [5].

Kelemahan subkultur berulang yaitu peningkatan biaya dan bahan dasar serta nutrisi [6]. Subkultur jangka panjang juga perlu dipertimbangkan karena dapat menyebabkan penurunan dan hilangnya potensi morfogenetik kultur [7]. Risiko kehilangan kultur juga dapat terjadi akibat dari *human error* atau kontaminasi mikroba selama kultur jangka panjang [8] sehingga disarankan untuk mengurangi frekuensi subkultur.

Slow growth atau teknik pertumbuhan lambat adalah teknik preservasi yang dilakukan dengan cara memperlambat pertumbuhan tanaman atau *planlet*. Hal ini bertujuan agar tanaman tersebut dapat disimpan dalam jangka waktu lama [9]. Penelitian terkait konservasi *in vitro* dengan penerapan teknik *slow growth* telah dilakukan untuk tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* dan *E. oleifera*) [10], *Senecio macrophyllus* [11], anggrek endemik di Meksiko *Laelia anceps* Lindl. [12], *Vanilla planifolia* Jacks [13], tanaman obat *Dioscorea floribunda* [14] dan *Amburana cearensis* [15].

Metode ini dapat menjadi solusi konservasi *in vitro* kantong semar jangka menengah karena tanaman dapat hidup lama di dalam botol tanpa perlu adanya subkultur. Pertumbuhan lambat dilakukan dengan menambahkan retard dan paclobutrazol ke dalam media tanam untuk memperlambat pertumbuhan kultur. Paclobutrazol mengikat enzim sehingga menghambat kerja enzim yang mengkatalisis reaksi pembentukan giberelin. Salah satu peran utama giberelin bagi tanaman adalah merangsang pemanjangan sel. Jika produksi giberelin dihambat, pembelahan sel masih terjadi, tetapi sel yang baru tidak memanjang. Penggunaan paclobutrazol untuk konservasi *in vitro* telah dilakukan pada kultur tanaman *Prunus serotina* [16], nanas [17], Belitung (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott. [18], dan tebu (*Saccharum officinarum*) [19].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh paclobutrazol terhadap pertumbuhan *N. rafflesiana* dan untuk mendapatkan konsentrasi paclobutrazol yang paling sesuai dalam konservasi *in vitro* *N. rafflesiana*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya - LIPI dari Bulan Januari hingga April 2020. Eksplan diambil dari dalam botol kultur, kemudian dipotong bagian batang beserta daun 4-6 helai. Potongan eksplan tersebut ditanam pada media Murashige dan Skoog dengan modifikasi setengah konsentrasi normal ($\frac{1}{2}$ MS) yang ditambahkan perlakuan paclobutrazol dengan konsentrasi 0, 1, 3, dan 5 ppm. Kultur diinokulasi pada kondisi terang dengan pencahayaan lampu TL selama 16 jam/hari dengan suhu 18-21°C.

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Kelompok Lengkap Teracak dengan faktor tunggal yaitu konsentrasi paclobutrazol sebanyak empat taraf. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan setiap ulangan terdapat 10 botol kultur. Pengamatan dilakukan setiap minggu selama 8 minggu yaitu dengan mengamati tinggi

batang, jumlah daun, jumlah kantong, warna daun dan warna kantong.

Data yang didapatkan diolah dengan menggunakan *Microsoft excel* dan SAS 9.0 dengan melakukan uji F pada taraf 5% untuk melihat perbedaan tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah kantong pada setiap perlakuan. Apabila terdapat perlakuan yang berpengaruh nyata terhadap perlakuan lainnya diuji lanjut dengan Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tinggi Batang, Jumlah Daun dan Jumlah Kantong

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan, kultur mulai memberikan respon pada 2 minggu setelah tanam. Kultur dengan konsentrasi paclobutrazol yang rendah menunjukkan peningkatan tinggi batang serta jumlah daun. Hasil uji lanjut BNJ (Tabel 1) didapatkan bahwa angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata. Artinya paclobutrazol dengan konsentrasi 0, 1 dan 3 ppm kurang baik dalam percobaan ini. Paclobutrazol dengan konsentrasi 5 ppm cukup baik dalam percobaan ini karena dapat menghambat pertumbuhan tinggi batang *Nepenthes rafflesiana* sama halnya dengan pemberian paclobutrazol (1, 3, dan 5 ppm) yang menghambat pertumbuhan tinggi tunas anggrek *Grammatophyllum* [20].

Tanaman yang diberi paclobutrazol memiliki pertambahan tinggi rata-rata yang lebih rendah dibandingkan tanaman kontrol, ini merupakan pengaruh yang ditimbulkan dari paclobutrazol yang menghambat produksi giberelin. [21] menyatakan tinggi tanaman merupakan hasil dari pembelahan dan pemanjangan sel-sel meristem apikal yang distimulasi oleh zat pengatur tumbuh (*growth regulator*) giberelin, sehingga kekurangan giberelin akan mengakibatkan pertumbuhan yang kerdil pada tanaman. Hal ini sesuai dengan penelitian [21] yang menunjukkan paclobutrazol dapat mempengaruhi pertumbuhan bibit cengkeh menjadi lebih pendek seiring dengan semakin tingginya konsentrasi paclobutrazol yang diberikan. Begitu pula pada tanaman anggrek pemberian paclobutrazol mampu menghambat pertumbuhan tinggi tunas anggrek [22].

Pertambahan jumlah daun pada kultur dengan konsentrasi paclobutrazol 5 ppm adalah yang paling sedikit. Tingginya konsentrasi paclobutrazol maka akan semakin sedikit tunas baru dan jumlah daun baru yang terbentuk.

Tabel 1. Pengaruh Konsentrasi Paclobutrazol dengan Tinggi Tanaman, Jumlah Daun dan Jumlah Kantong

Konsentrasi Paclobutrazol	Peubah		
	Tinggi Tanaman	Jumlah Daun	Jumlah Kantong
0 ppm	0.42 ^a	2.23 ^a	1.90 ^a
1 ppm	0.28 ^b	1.80 ^a	1.13a
3 ppm	0.22 ^b	1.47 ^a	0.10a
5 ppm	0.03^c	0.50^b	0.10a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda pada taraf uji 5% (BNJ)

Hasil ini sebanding dengan penambahan jumlah kantong pada kultur. Paclobutrazol yang ditambahkan ke dalam media menghasilkan asam absisat yang menjadi inhibitor pertumbuhan tanaman sehingga tanaman mengalami dormansi yaitu aktivitas fisiologis terhenti sementara waktu.

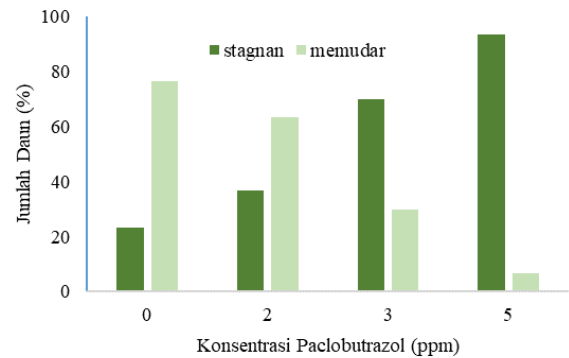
Warna Daun dan Warna Kantong

Konsentrasi paclobutrazol memberikan pengaruh yang berbeda-beda pada warna daun *Nepenthes rafflesiana*. Persentase jumlah kultur yang warna daunnya memudar paling banyak terdapat pada paclobutrazol konsentrasi 0 ppm sebesar 76,67 %. Warna daun yang memudar paling sedikit terdapat pada paclobutrazol konsentrasi 5 ppm sebesar 6,67 %. Hasil ini relevan dengan persentase jumlah kultur yang warna daunnya stagnan paling banyak terdapat pada konsentrasi 5 ppm sebesar 93,33 % dan yang paling sedikit terdapat pada konsentrasi 0 ppm sebesar 23,33 % seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Mansuroglu dkk. [23] pemberian paclobutrazol pada tanaman *Consolida orientalis* memberikan penampilan yang berbeda terhadap warna daun menjadi lebih hijau, warna bunga yang lebih tajam dan pertumbuhan menjadi kompak. Data ini menunjukkan bahwa paclobutrazol dapat mempertahankan warna daun sehingga tidak layu dan gugur. Hasil ini relevan dengan penelitian konservasi ubi kayu dengan planlet pada perlakuan paclobutrazol 0 ppm mengalami gugur daun [24]. Persentase jumlah kultur yang warna daun memudar dan stagnan dapat dilihat pada Gambar 1.

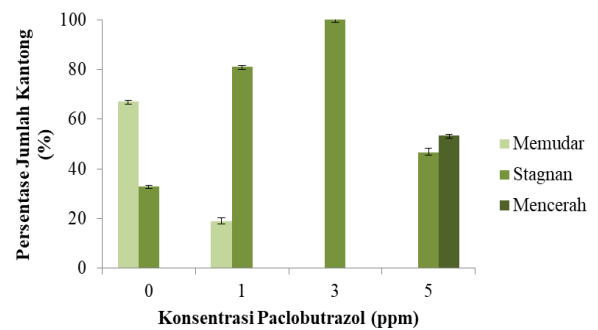
Warna kantong pada kultur menghasilkan respon yang berbeda-beda terhadap konsentrasi paclobutrazol dalam percobaan ini. Respon ini sama dengan respon pada warna daun, semakin rendah konsentrasi paclobutrazol maka semakin banyak kultur yang warna kantongnya memudar dan semakin tinggi konsentrasi paclobutrazol, semakin sedikit kultur yang warna kantongnya memudar. Pada pengamatan ini diketahui dari data yang tertera pada Gambar 2 bahwa persentase jumlah kultur yang warna kantongnya memudar paling banyak terdapat pada konsentrasi 0 ppm yaitu sebesar 67% dan yang paling sedikit terdapat pada konsentrasi 5 ppm sebesar 0%. Persentase jumlah kultur yang warna kantongnya stagnan paling sedikit terdapat pada konsentrasi 0 ppm yaitu sebesar 33 % dan yang paling banyak terdapat pada konsentrasi 3 ppm sebesar 100%. Persentase jumlah kultur yang warna kantong memudar, stagnan dan mencerah dapat dilihat pada Gambar 2 dan perbandingan warna daun dapat dilihat pada Gambar 3.

SIMPULAN

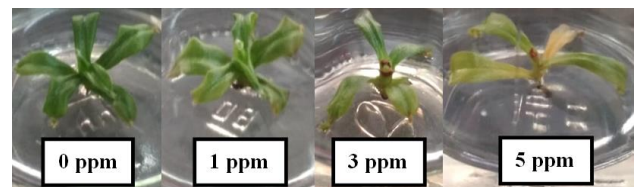
Media dasar $\frac{1}{2}$ MS dengan kombinasi paclobutrazol 5 ppm merupakan media terbaik untuk konservasi *Nepenthes rafflesiana* dengan metode *slow growth* yang dapat menghambat tinggi tanaman, jumlah daun dan dapat mempertahankan warna hijau daun serta kantong.



Gambar 1. Persentase jumlah kultur yang warna daunnya memudar dan stagnan



Gambar 2. Persentase jumlah kultur yang warna kantongnya memudar, stagnan dan mencerah.



Gambar 3. Perbandingan warna daun pada tiap konsentrasi paclobutrazol

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terima kasih kepada Bapak Djauhar Asikin selaku Kepala Laboratorium kultur jaringan Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya – LIPI dan Ibu Irma Handayani yang telah membantu penelitian ini.

AUTHORSHIP

Semua penulis artikel ini adalah contributor utama yang mempunyai kontribusi yang sama dalam penelitian dan penulisan artikel ini

REFERENSI

- [1] C. Clarke, *Nepenthes of Borneo*. Sdn. Bhd, Malaysia: Natural History Publications (Borneo), 1997.
- [2] Conventional on International Trade in Endagenred Species of Wild Fauna and Flora, "Appendices I, II and III," 2018

- [3] .C.M. Clarke, *Nepenthes rafflesiana* (errata version published in 2019). The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T39689A143963510. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-1.RLTS.T39689A143963510.en> [1 Oktober 2020].
- [4] Y. Isnaini, E. Handini, "Perkecambahan biji kantong semar (*Nepenthes gracilis* Korth.) secara *in vitro*". Buletin Kebun Raya Bogor Vol.10, no. 2, pp 40–46. 2007.
- [5] L.A. Withers, Preservation of Germplasm. In: I. Vasil (ed) Perspectives in plant cell and tissue culture (international review of cytology, Suppl. 11B). New York: Academic, 1980, pp 101–133.
- [6] S.Z. Cordeiro, N.K. Simas, A.B. Henriques, A. Sato, "In vitro conservation of *Mandevilla moricandiana* (Apocynaceae): short-term storage and encapsulation-dehydration of nodal segments," *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, vol. 50, pp.326–336. 2014
- [7] Y.J. Hao, X.X. Deng, "Genetically stable regeneration of apple plants from slow growth". *Plant Cell Tiss. Org. Cult*, vol. 72, pp.253–260, 2003.
- [8] B.W.W. Grout, "In vitro conservation of germplasm. In: Bhojwani SS (ed) *Plant tissue culture: applications and limitations*. Amsterdam: Elsevier, 1990, pp 394–423.
- [9] W. Hardiningsih, Muzakkir, I. Suliansyah, "Kryopreservasi sebagai upaya konservasi plasma nutfah jangka panjang secara *in vitro* beberapa genotipe pisang (*Musa Spp L.*)". *J. Embryo*, vol. 5, no. 2, pp. 69-75, 2012.
- [10] J. Camillo, J. E. Scherwinski-Pereira, "In vitro maintenance, under slow-growth conditions, of oil palm germplasm obtained by embryo rescue," *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, vol. 50, no.5, pp 426–429, 2015. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2015000500010>.
- [11] A.Trejgell, M. Kamińska, A. Tretyn, "In vitro slow growth storage of *Senecio macrophyllus* shoots," *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 37, no.11, pp. 2015. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1983-8>.
- [12] M.A. Ramírez-Mosqueda, C.A. Cruz-Cruz, J. Atlahua-Temoxtle, J.J. Bellino-Bello, "In vitro conservation and regeneration of *Laelia anceps* Lindl.," *South African Journal of Botany*, vol. 121, pp. 219–223, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.11.010>.
- [13] J.J. Bello-Bello, G.G. García-García, L. Iglesias-Andreu, "In vitro conservation of vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks.) under slow growth conditions," *Revista Fitotecnia Mexicana*, vol. 38, no. 2, pp. 165–171, 2015. <https://doi.org/10.35196/rfm.2015.2.165>.
- [14] P. Sanghamitra, S. Samantaray, T.B. Bagchi, B.B. Mandal, "Conservation of medicinal yam *in vitro*: Effect of ionic strength, sucrose, mannitol, ABA and low temperature," *Indian Journal of Horticulture*, vol. 76, no. 4, pp 701–706, 2019. <https://doi.org/10.5958/0974-0112.2019.00110.5>.
- [15] B.F.M. Alvim, A.V.V. de Souza, A. Lima-Brito, P.T. Fonseca, T.L. Soares, J.R.F. de Santana, "In vitro conservation of *Amburana cearensis* (Fabaceae)," *Ciencia Rural*, vol. 50, no. 7, pp 1–8, 2020. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190729>.
- [16] M.K. Eliasson, C.A. Beyl, P.A. Barker, "In vitro responses and acclimatization of *Prunus serotina* with paclobutrazol," *Journal of Plant Growth Regulation*, vol. 13, no.3, pp. 137–142, 1994. <https://doi.org/10.1007/BF00196377>.
- [17] A.M.M. Eloy Canto, F.V. Duarte Souza, M.A. Carvalho Costa, A. Da Silva Souza, C.A. Da Silva Ledo, J.R. Souza Cabral, 2004. "In vitro conservation of pineapple germplasm treated with paclobutrazol". *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, vol. 39, no.7, pp. 717–720. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2004000700014>.
- [18] M. Sabda, N. Dewi, "Multiplikasi tunas dan konservasi *in vitro* tanaman belitung (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) dengan metode pertumbuhan minimal," *Jurnal AgroBiogen*, vol. 12, no. 2, pp. 101. 2018. <https://doi.org/10.21082/jbio.v12n2.2016.p101-108>.
- [19] D. Daniels, N. Panti, D. Guerra, S. Williams, "Effects of different paclobutrazol cultar concentrations on the micropropagation of sugarcane (*Saccharum officinarum*) variety CPCL99-4455". *Journal of Advances in Biotechnology*, vol. 7, pp. 1011–1018, 2018. <https://doi.org/10.24297/jbt.v7i1.7567>.
- [20] N.A. Habibah Sumadi. "Konservasi tanaman anggrek *Grammatophyllum* secara *invitro* melalui pertumbuhan minimal menggunakan paclobutrazol," *J. MIPA. Universitas Negeri Semarang*, vol. 36, no. 1, pp. 1-6, 2013.
- [21] S. D. Runtuwu, "Konsentrasi paclobutrazol dan pertumbuhan tinggi bibit cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L) Merryl & Perry)," *Euginia*, vol.17, no.2, pp.135-141, 2011.
- [22] H. Rachmi, Hasan, Sarawa, I. G. R. Sadimantara. "Respon tanaman anggrek *Dendrobium* sp. terhadap pemberian paklobutrazol dan pupuk organik cair," *Jurnal Agronomi*, vol.1. no.1, pp.73-78, 2012.
- [23] S. Mansuroglu, O. Karaguzel, V. Ortacesme and M.S. Sayan. "Effect of Paclobutrazol on Flowering Leaf and Colour of *Consolida orientalis*," *Pak. J. Bot.*, vol. 41, no. 5, pp. 2323-2332, 2009.
- [24] Li'ana. 2016. Konservasi *in vitro* ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) genotype UJ-5 dan jame-jame dengan teknik pertumbuhan minimal [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.