



ENKAPSULASI ARTIFICIAL SEED KAKAO DENGAN NA-ALGINAT COCOA ARTIFICIAL SEED ENCAPTULATION WITH NA-ALGINAT

***Dwi Sucianingtyas Sukanto**

Pendidikan Biologi FKIP Universitas PGRI Argopuro Jember
Email^{*}: dwisucianingtyas@gmail.com

ABSTRAK

Artificial seed merupakan benih buatan yang dibuat dengan teknik enkapsulasi. Keuntungan *artificial seed* adalah lebih potensial untuk penyimpanan yang lama tanpa kehilangan viabilitas, lebih mudah dalam proses transportasi, skala produksi besar dengan biaya produksi yang rendah. Sistem enkapsulasi pada kakao dilakukan karena penyediaan bibit dengan mengecambahkan benih belum mampu memenuhi kebutuhan bibit kakao. Benih kakao termasuk benih rekalsitran jika disimpan harus mengandung air di atas 20%, tidak tahan dikeringkan, dan tidak tahan disimpan pada temperatur rendah. Pada proses enkapsulasi, eksplan yang telah dibungkus dengan sodium alginat direndam dalam larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ untuk menambah kekerasan dan kekakuan kulit kapsul. Oleh karena itu, konsentrasi dari bahan penyalut dan larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ serta waktu perendaman harus optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kombinasi yang tepat antara konsentrasi Na-alginat, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan waktu perendaman. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Jember. Data diamati berdasarkan kualitas kapsul, berdasarkan 2 faktor perlakuan. Faktor pertama adalah Konsentrasi Na-alginat (N) yang terdiri atas 3 taraf, 2%; 2,5% dan 3%. Faktor kedua adalah waktu perendaman pada larutan gr $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (W) , 5; 10; 15; 20 dan 30 menit. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa produksi *artificial seed* menggunakan 2,5% Na-alginat yang dilarutkan dalam MS_0 , dan direndam dalam larutan 100 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. selama 15 menit memiliki kekerasan kapsul yang optimal.

Kata Kunci : *Artificial Seed*, Enkapsulasi, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Kakao, Na-alginat

ABSTRACT

Artificial seed is an artificial seed made by encapsulation technique. The advantages of artificial seeds are more potential for long storage without loss of viability, easier transportation process, large production scale with low production costs. The encapsulation system for cocoa is carried out because the provision of seeds by germinating seeds has not been able to meet the needs of cocoa seeds. Cocoa seeds, including recalcitrant seeds, if stored, must contain water above 20%, cannot withstand drying, and cannot be stored at low temperatures. In the encapsulation process, explants that had been wrapped in sodium alginate were immersed in a $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ solution to increase the hardness and rigidity of the capsule shell. Therefore, the concentration of the coating material and $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ solution and the immersion time must be optimal. This study aims to determine the right combination of concentration of Na-alginate, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and immersion time. This research was conducted at the Laboratory of Tissue Culture, Faculty of Agriculture, University of Jember. Data were observed based on capsule quality, based on 2 treatment factors. The first factor is the concentration of Na-alginate (N) which consists of 3 levels, 2%; 2.5% and 3%. The second factor is the immersion time in a solution of $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (W) , 5; 10; 15; 20 and 30 minutes. Each treatment combination was repeated 3 times. The experimental results showed that artificial seed production used 2.5% Na-alginate dissolved in MS0, and immersed in 100 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ solution. for 15 minutes has optimal capsule hardness.

Keywords: Artificial Seed, Encapsulation, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Cocoa, Na-alginate

BAB I. PENDAHULUAN

Artificial seed merupakan benih buatan yang dibuat dengan teknik enkapsulasi. Teknik enkapsulasi dilakukan dengan cara menyalut atau membungkus eksplan (embrio somatik, meristem, ujung akar, ujung tunas axilar, maupun planlet mikro) dengan suatu bahan penyalut khusus yang membuat eksplan tidak rusak, dapat disimpan dan dapat dikecambahkan (Siahaan, 1996). Keuntungan *artificial seed* adalah lebih potensial untuk penyimpanan yang lama tanpa kehilangan viabilitas, lebih mudah dalam proses transportasi, skala produksi besar dengan biaya produksi yang rendah (Rao *et al.*, 1993; Guerra *et al.*, 2001; Saiprasad, 2001; Nower *et al.*, 2007; dan Daud *et al.*, 2008).

Sistem enkapsulasi pada kakao dilakukan karena penyediaan bibit dengan mengecambahkan benih belum mampu memenuhi kebutuhan bibit kakao. Benih kakao termasuk benih rekalsitran jika disimpan harus mengandung air di atas 20%, tidak tahan dikeringkan dan tidak tahan disimpan pada temperatur rendah (Pence 1992; Benson, 2000; Fang, *et. al.*, 2004). Benih kakao yang dikeluarkan dari buahnya, dapat berkecambah dalam waktu 3-4 hari dan segera kehilangan daya kecambahnya dalam waktu 7 hari. Hal tersebut menyebabkan kendala pada proses penyimpanan dan pendistribusian benih, sedangkan jika

mendistribusikan bibit hasil pengecambahan akan memerlukan volume yang banyak dan bobot yang berat.

Artificial seed kakao yang memiliki volume lebih kecil, tidak berkecambah saat penyimpanan, sehingga diharapkan mampu mengatasi kendala tersebut. Bahan penyalut yang digunakan pada teknik enkapsulasi adalah Natrium alginat, karena memiliki sifat cepat mengeras, mudah larut dalam suhu ruang, rendah zat toksik, murah dan kekakuan kapsul alginat lebih melindungi embrio somatik daripada agar yang lain (Saiprasad, 2001) serta lebih permeabel dibandingkan dengan substrat agar (Bapat, *et al.*, 1987). Eksplan yang telah dibungkus dengan sodium alginat direndam dalam larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ untuk menambah kekerasan dan kekakuan kulit kapsul (Ara *et al.*, 2000). Oleh karena itu, konsentrasi dari bahan penyalut dan larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ serta waktu perendaman harus optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kombinasi yang tepat antara konsentrasi Na-alginat, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan waktu perendaman.

METODE PENELITIAN

Percobaan ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Jember. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari; embrio zigotik kakao klon Sca 06, 0,5 ppm Na-alginate, media MS, GA_3 , larutan fungisida (0,5 g *benlate*), bakterisida (1 ml *bactocyn*), dan antibiotik (0,2 g amoxycilyn). Alat yang digunakan adalah *Laminar Air Flow*, lampu, cawan petri, botol kultur dan lain sebagainya.

Data diamati berdasarkan kualitas kapsul, berdasarkan 2 faktor perlakuan. Faktor pertama adalah Konsentrasi Na-alginat (N) yang terdiri atas 3 taraf, yaitu; 2%; 2,5% dan 3%. Faktor kedua adalah waktu perendaman pada larutan gr $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (W), antara lain; 5; 10; 15; 20 dan 30 menit. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Buah kakao klon Sca 06 yang berumur 100-120 hari disterilisasi dengan menggunakan alkohol. Buah dibuka dan diambil embrionya, kemudian embrio ditanam pada media MS yang mengandung *charcoal* dan 1 ppm GA_3 , selama 4 minggu, sehingga embrio siap untuk dienkapsulasi.

Pembuatan media alginasi dilakukan dengan melarutkan 2 mg; 2,5 mg dan 3 mg Natrium alginat dalam 100 ml media MS_0 tanpa gula. Embrio zigotik kakao yang telah dipre-kultur kemudian dienkapsulasi dengan menyalut atau membungkusnya dengan larutan natrium alginat dengan konsentrasi sesuai perlakuan. Penyalutan dilakukan dengan bantuan sendok kecil dan untuk mengeraskannya menjadi gel, kapsul embrio zigotik yang tersalut direndam dalam larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2 gr $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /100 ml aquadest steril) dengan waktu perendaman sesuai perlakuan. Selanjutnya, kapsul direndam selama 30 menit dalam campuran larutan

fungisida (0,5 g *benlate*), bakterisida (1 ml *bactocyn*), dan antibiotik (0,2 g amoxycilyn) yang dilarutkan dalam 200 ml aquades steril untuk mengendalikan kontaminasi. Kapsul tersebut kemudian ditiriskan dalam kertas saring. Kapsul inilah yang disebut sebagai *artificial seed* kakao.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi *artificial seed* menggunakan Na-alginat dengan konsentrasi sesuai perlakuan yang dilarutkan dalam MS₀, dan direndam dalam larutan 100 mM CaCl₂.2H₂O. dengan waktu sesuai perlakuan. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menentukan kombinasi yang tepat antara konsentrasi Na-alginat, konsentrasi CaCl₂.2H₂O. dan waktu perendaman dalam larutan CaCl₂.

Dalam pembuatan *artificial seed* konsentrasi Na-alginat yang dibutuhkan sangat bervariasi, tergantung dari jenis tanaman dan bagian tanaman yang dienkapsulasi (Siahaan, 1996). Pada penelitian ini diperoleh hasil yang dapat dilihat pada Tabel 1. berikut ini.

Tabel 1. Kondisi Warna dan Kekerasan Kapsul Embrio Kakao

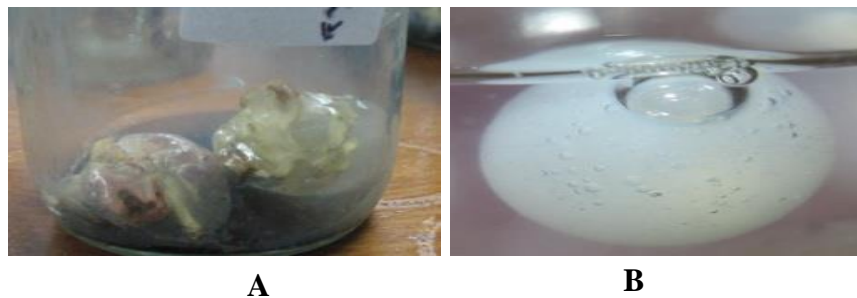
Konsentrasi Na-Alginat (%)	Waktu perendaman CaCl ₂ .2H ₂ O (menit)	Warna Kapsul	Kekerasan Kapsul
2	5	bening	sangat lunak
	10	bening	sangat lunak
	15	bening	lunak
	20	bening	lunak
	30	bening	lunak
2,5	5	bening	sangat lunak
	10	bening	lunak
	15	bening	keras
	20	agak putih	keras
	30	putih	keras
3	5	agak putih	keras
	10	putih	sangat keras
	15	putih	sangat keras
	20	putih	sangat keras
	30	putih	sangat keras

Berdasarkan tabel hasil pengamatan, dapat diketahui bahwa produksi *artificial seed* menggunakan 2,5% Na-alginat yang dilarutkan dalam MS₀, dan direndam dalam larutan 100 mM CaCl₂.2H₂O. selama 15 menit, memiliki kekerasan kapsul yang optimal.

Konsentrasi Na-alginat yang digunakan pada penelitian ini adalah 2%; 2,5% dan 3%. Pada konsentrasi 2,5% kapsul yang terbentuk tidak terlalu keras atau padat dan juga tidak terlalu lunak. Hasil ini juga pernah dilakukan dalam metode penelitian Castillo *et al.* (1998) untuk enkapsulasi embrio pepaya (*Carica papaya*) dengan menggunakan 2,5% Na-alginat.

Kekerasan kapsul yang terbentuk merupakan penentu keberhasilan perkecambahan *artificial seed* dan kemampuan hidup embrio dalam kapsul. Selain konsentrasi Na-alginat, waktu perendaman kapsul dalam larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ juga merupakan faktor penentu kekerasan kapsul.

Waktu perendaman kapsul dalam larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dilakukan dengan merendam kapsul yang terbentuk pada 100 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dengan waktu perendaman 5; 10; 15; 20 dan 30 menit. Hasil percobaan menunjukkan bahwa, jika perendaman dilakukan selama 5 atau 10 menit kulit kapsul masih lunak dan akan menyebabkan embrio mudah keluar dari kapsul, sedangkan jika perendaman dilakukan selama 20 atau 30 menit, kapsul sangat keras dan berwarna putih. Pada perendaman selama 15 menit kapsul yang dihasilkan tidak berwarna (bening) serta memiliki kulit yang keras (Gambar 1.).



Gambar 1. Kualitas kapsul : (A) Kapsul *artificial seed* kakao perlakuan Na-alginat 2,5% direndam dalam larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ selama 15 menit tidak berwarna dan berkulit keras; (B) Kapsul *artificial seed* kakao perlakuan Na-alginat 2,5% direndam dalam larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ selama 20 menit berwarna putih dan berkulit sangat keras.

Waktu perendaman selama 15 menit merupakan waktu yang optimum terbentuknya *artificial seed* kakao. Na-alginat akan mengeras jika direndam dalam larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Perendaman tersebut menyebabkan terjadinya pertukaran ion Ca^{2+} dalam larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan Na^+ dalam sodium alginat (Saiprasad, 2001). Pertukaran ion tersebut membentuk *calcium alginate* yang bersifat padat (Marreta, 2008).

Ketepatan kekerasan kapsul sangat bagus untuk mendukung daya serap embrio zigotik terhadap nutrisi yang ada di dalam kapsul. Kondisi kapsul yang terlalu padat akan membatasi pertumbuhan dan perkembangan *artificial seed*, karena embrio kesulitan menyerap nutrisi, sedangkan jika kondisi kapsul yang terlalu lunak mengakibatkan bentuk kapsul tidak bulat dan mudah robek.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menentukan kombinasi yang tepat antara konsentrasi Na-alginat, konsentrasi $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dan waktu perendaman dalam larutan CaCl_2 .

Beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa kapsul 3% Na-alginat, yang direndam dalam 100 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ selama 30 menit efektif untuk enkapsulasi ujung akar *Saintpaulia ionantha* (Daud *et al.*, 2008). Enkapsulasi *artificial seed* nanas sangat efektif jika menggunakan 3% Na-alginat yang direndam dalam 30 menit 60 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Soneji *et al.*, 2002).

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa produksi *artificial seed* menggunakan 2,5% Na-alginat yang dilarutkan dalam MS_0 , dan direndam dalam larutan 100 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ selama 15 menit memiliki kekerasan kapsul yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Ara, H., U. Jaiswal and V.S. Jaiswal. (2000). Synthetic Seed: Prospects and Limitations. *Current Science*. 78: 1438-1444.
- Bapat, V.A., M. Mhatre, And P.S. Rao. (1987). Propagation of *Morus indica* L. (mulberry) by encapsulated shoot buds. *Plant Cells Report*. 6: 393-395.
- Benson, E.E.(2000). In Vitro Plant Recalcitrance: An Introduction. *In vitro and Developmental Biology*. 36:141-148.
- Castillo, B., M.A.L Smith, and U.L. Yadava. (1998). Plant regeneration from encapsulated somatic embryos of *Carica papaya* L. *Plant Cell Report*. 6: 393-395.
- 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: 4662-4667.
- Fang, J.Y., A. Wetten and P. Hadley. (2004). Cryopreservation of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Somatic Embryos For Long-Term Gemplasm Storage, *Plant Science*. 166: 669-675.
- Guerra, M.P, L.L. Dal Vesco, J.P.H.J. Ducroquet, R.O. Nodari, and M.S. Dos Reis. (2001). Somatic Embryogenesis In Goiabeira Serrana: Genotype Response, Auxinic Shock and Synthetic Seeds. *Fisiology Vegetation*. 13:117-128.
- Maretta, D. (2008). *Kapsulasi dan Desikasi pada Pembuatan Benih Sintetik (online)*. <http://benihsintetik.blogspot.com/>, diakses pada 20 Desember 2008.
- Nower, A.A., E.A.M Ali. and A.A. Rizkalla. (2007). Synthetic Seeds of Pear (*Pyrus communis* L.) Rootstock Storage *In vitro*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 1: 262-270.
- Pence, V.C. (1992). Absciscic Acid and the Maturation of Cacao Embryos in Vitro. *Plant Physiol*. 98:1391-1395.
- Rao P.S., T.R.Ganapathi, P. Suprasanna and V.A. Bapat V.A. (1993). Encapsulated shoot tips of banana : a new propagation and delivery system. *InfoMusa* 2: 4-5.

Saiprasad, G. V. S. (2001). Artificial Seeds and their Applications. *General Article*. India.

Siahaan, F. R. (1996). Enkapsulasi Bibit Mikro Kentang (*Solanum tuberosum*, L.) dengan Natrium Alginat. Tidak Dipublikasikan. *Tesis*. Bogor: Program PascaSarjana Institut Pertanian Bogor.

Soneji, J.R., P.S. Rao, and M. Mhatre. (2002). Germination of synthetic seeds of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr). *Plant Cell Report*. 20: 891-894.