

Alga Merah (*Gracilaria coronopifolia*) sebagai Sumber Fitohormon Sitokinin yang Potensial

Saadah Diana Rachman, Zakiyah Mukhtari, R. Ukun M.S. Soedjanaatmadja*

Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang km. 21 Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat, 45363

*Penulis korespondensi: ukun@unpad.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v5.n3.16060>

Abstrak: Alga merah (*Gracilaria coronopifolia*) merupakan tanaman tingkat rendah berupa thallus yang tidak memiliki daun, akar dan batang sejati serta sebagian besar tumbuh pada batu di terumbu karang. Alga merah selain mengandung beberapa senyawa organik seperti polisakarida, vitamin, dan berbagai senyawa bioaktif, juga merupakan tanaman yang mengandung fitohormon sitokinin yang cukup potensial dan bermanfaat untuk pembuatan pupuk hormon/biostimulan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi sitokinin dari alga merah *G. coronopifolia*, serta mengetahui pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman padi (*Oryza sativa*). Isolasi dan identifikasi sitokinin dimulai dengan proses maserasi menggunakan metanol 80%, ekstraksi dengan etil asetat, kromatografi adsorpsi, kromatografi lapis tipis preparatif, dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) fase terbalik menggunakan kolom nukleosil ODS. Keaktifan isolat sitokinin diuji hayati dengan menggunakan bioindikator padi, dengan mengukur panjang tajuk dan berat kering tajuk tanaman uji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa panjang tajuk dan berat kering tanaman uji dengan penambahan isolat sitokinin sebesar 19,6 ppm masing-masing meningkat sebesar 22,12% dan 10,49%. Hasil KCKT dari sitokinin hasil isolasi menunjukkan waktu retensi yang sama dengan standar sitokinin (*trans-zeatin*) yaitu 8,28 menit. Kadar sitokinin yang terdapat dalam *Gracilaria coronopifolia* adalah $6,26 \times 10^{-2}$ mg/g berat kering.

Kata kunci: alga merah, *Gracilaria coronopifolia*, fitohormon, sitokinin, *Oryza sativa*

Abstract: Red algae (*Gracilaria coronopifolia*) is low level form of thallus plants that have no true leaves, roots and stems and mostly grows on rocks in the coral reef. Red algae, in addition to containing some organic compounds such as polysaccharides, vitamins, and other bio-active compounds, is also containing cytokinin which is potential and useful for the manufacture of hormone fertilizers /bio-stimulant. This research aims to isolate and identify cytokinin from *G. coronopifolia* (red algae), as well as investigate its effects on the growth of rice (*Oryza sativa*). Isolation and identification of cytokinin was initiated with maceration process using methanol 80%, extraction with ethyl acetate, adsorption chromatography, preparative thin layer chromatography, and high-performance liquid chromatography (HPLC) using reversed phase column on nucleosil ODS. Cytokinin isolates was tested for biological activity using the rice as bio-indicator, by measuring the length of the header and the header test plant dry weight. The results showed that the length of the header and the dry weight of the plant with the addition of the 19.6 ppm cytokinin isolates increased by 22.12 and 10.49%, respectively. The results from reversed phase of HPLC indicate that retention time of isolated cytokinin was similar to that of the cytokinin standard (*trans-zeatin*), at 8.28 minutes. Cytokinin content in *G. coronopifolia* was 6.26×10^{-2} mg/g dry weight.

Keywords: Red Algae, *Gracilaria coronopifolia*, phytohormone, cytokinin, *Oryza sativa*

PENDAHULUAN

Fitohormon adalah senyawa organik yang disintesis di salah satu bagian tumbuhan dan dipindahkan ke bagian lain, dan pada konsentrasi yang sangat rendah mampu menimbulkan respon fisiologis. Semua tanaman sudah mengandung hormon endogen seperti auksin, sitokinin, dan giberelin, yang mempunyai peranan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman secara normal (Salisbury & Ross 1995).

Hormon auksin, sitokinin, dan giberelin dapat dimanfaatkan sebagai hormon eksogen bagi tanaman lain. Hormon eksogen ini mutlak diperlukan oleh

tanaman. Penambahan hormon eksogen diperlukan untuk mengatasi kekurangan hormon endogen pada tanaman yang ditandai dengan, pertumbuhan yang di bawah normal (lambat), kerontokan bunga dan juga ukuran umbi atau buah yang kecil. Penyebab dari kekurangan hormon endogen tersebut antara lain dikarenakan oleh pola budidaya yang kurang intensif dan pengelolaan tanah yang kurang tepat. Dengan dilakukannya penambahan hormon eksogen, maka masalah kekurangan hormon endogen pada tumbuhan yang menjadi masalah di sektor pertanian dapat diatasi. Selain itu, penambahan hormon eksogen ini juga dapat meningkatkan kualitas dan kuantitas

produk pertanian. Hal ini menyebabkan kebutuhan pangan yang semakin meningkat karena meningkatnya jumlah penduduk dapat diatasi dan kesejahteraan masyarakat Indonesia pun akan meningkat.

Pada dasarnya, setiap tanaman memiliki kemampuan untuk mensintesis fitohormon dalam tubuhnya (hormon endogen). Telah banyak penelitian yang berhasil mengisolasi fitohormon endogen dari berbagai jenis tanaman seperti tanaman pare, jagung muda, tauge, dan berbagai jenis alga laut.

Pada penelitian ini, alga dijadikan sebagai sumber fitohormon karena alga memiliki struktur yang sangat mirip dengan tumbuhan tingkat tinggi, hal ini ditunjukkan oleh kemampuannya untuk berfotosintesis karena adanya klorofil a dan b, cadangan makanan utamanya berupa pati, susunan dinding selnya berupa selulosa dan ultrastrukturnya yang sangat serupa dengan yang dimiliki oleh tanaman tingkat tinggi (Loveless 1983). Berdasarkan hal tersebut, dapat diasumsikan bahwa proses metabolisme, pertumbuhan, dan perkembangan yang terjadi pada alga sama dengan proses metabolisme, pertumbuhan, dan perkembangan yang terjadi pada tanaman tingkat tinggi, dimana ketiga proses tersebut dipengaruhi oleh adanya hormon endogen (fitohormon) pada tanaman.

Telah banyak dilakukan penelitian yang membuktikan bahwa di dalam alga terdapat fitohormon terutama auksin dan sitokinin. Menurut Verkleij (dalam Davis *et al.* 2004) menyatakan bahwa beberapa peneliti telah menemukan di dalam alga terkandung beberapa hormon pertumbuhan tanaman meliputi hormon sitokinin, giberelin, asam absisat, *indole acetic acid* (auksin), dan senyawa fenolik. Pemberian ekstrak rumput laut pada tanaman dapat meningkatkan pembelahan sel, pemanjangan akar dan batang, inisiasi pembungaan, dan membantu fungsi metabolisme lain. Hal ini membuktikan bahwa di dalam alga terdapat fitohormon.

Sitokinin yang merupakan salah satu jenis fitohormon yang terdapat dalam ekstrak tanaman air (rumput laut) memberikan efek yang menguntungkan pada hasil panen yaitu meningkatkan jumlah dan ukuran buah atau benih, membantu pembungaan, dan menunda kebusukan pada tanaman yang sudah tua (Baldwin 2001; Baker 1996). Sitokinin yang terdapat dalam ekstrak rumput laut juga dapat mengurangi stress pada tanaman akibat adanya radikal bebas (Schmidt 1998). Menurut Jenning, sitokinin diproduksi oleh alga coklat serta menurut Hussain & Boney, sitokinin juga diproduksi oleh alga merah (Ergun *et al.* 2002).

Keberadaan auksin dan giberelin di dalam alga merah *Euchema cotonii* juga telah diketahui. Selain itu, auksin dan giberelin yang terdapat dalam alga merah *E. Cotonii* dapat memicu pertumbuhan tanaman padi. Konsentrasi auksin yang terdapat dalam alga merah *E. Cotonii* sebesar $5,3344 \times 10^{-3}$ mg/g berat kering (Tampubolon 2008), sedangkan

konsentrasi giberelin yang terdapat dalam alga merah *E. Cotonii* sebesar 0,25 mg/g berat kering (Agustina 2008). Konsentrasi fitohormon yang terdapat dalam alga tergantung pada kondisi lingkungan tempat alga tersebut tumbuh (Han 2005), maka dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan hormon sitokinin pada alga yang tumbuh di tempat yang berbeda.

Pada penelitian ini dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan hormon sitokinin yang terdapat dalam alga *G. coronopifolia*. Pemilihan alga *G. coronopifolia* sebagai sumber hormon sitokinin karena walaupun konsentrasi fitohormon yang terkandung dalam alga lebih rendah dibandingkan dengan tanaman tingkat tinggi, namun alga merupakan tanaman yang sangat mudah dibudidayakan sehingga banyak ditemukan di berbagai tempat di Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga *G. coronopifolia* yang berasal dari Kabupaten Subang, Propinsi Jawa Barat, dan padi (*O. sativa*) varietas IR 64 yang berasal dari Kecamatan Jatinangor, Kabupaten Sumedang, Propinsi Jawa Barat sebagai bioindikator pada uji hayati. Bahan-bahan kimia yang digunakan semuanya adalah bahan kimia yang berkategori PA.

Pembuatan Ekstrak Alga

Alga *G. coronopifolia* dicuci sampai bersih lalu dikeringkan. Selanjutnya alga kering diblender hingga hancur, kemudian sebanyak 250 g alga halus dimaserasi dalam 800 mL metanol 80% selama 4×24 jam dalam suhu ruang. Setelah itu ekstrak metanol dikumpulkan dan dipisahkan dengan evaporator vakum pada suhu di bawah 40°C sampai diperoleh konsentrat.

Ekstraksi dan Pemurnian Parsial

Konsentrat hasil maserasi sebanyak 50 mL dibasakan dengan larutan kalium hidroksida 0,2 N sampai pH 8 dan diekstraksi dengan etil asetat sebanyak dua kali pengulangan. Kedua lapisan yang terbentuk dipisahkan, lapisan air kemudian diasamkan dengan asam klorida 0,2 N sampai pH 2,5, kemudian diekstraksi kembali dengan etil asetat sebanyak dua kali pengulangan. Fraksi asam etil asetat dievaporasi sampai kering dengan evaporator vakum. Residunya dilarutkan dalam 5,0 mL metanol.

Kromatografi Lapis Tipis Analitis

Kromatografi lapis tipis analitis ini dilakukan dengan menggunakan pelat yang dilapisi silika gel GF-254. Pelat ini dipotong dengan ukuran 5 × 1 cm kemudian dibuat garis batas bawah 0,5 cm dan batas atas 0,5 cm. Sampel dalam metanol ditotolkan dengan pipa kapiler pada garis batas bawah dan di sebelahnya ditotolkan standar. Kromatogram dielusi

dengan campuran isopropanol-larutan amonia-air (20:1:1) sampai permukaan naik setinggi garis batas atas. Hasilnya dilihat dengan lampu UV $\lambda = 254$ nm kemudian ditentukan Rf.

Kromatografi kolom adsorpsi

Ekstrak alga dimasukkan ke dalam kolom Silika gel G-60, kemudian dielusi dengan campuran isopropanol-larutan amonia-air (20:1:1). Lalu fraksi-fraksi ditampung. Pola noda tiap fraksi dianalisis dengan kromatografi lapis tipis analitik dan nilai Rf tiap fraksi dibandingkan dengan Rf standar sitokinin. Fraksi-fraksi yang sejajar standar digabungkan dan dievaporasi dengan evaporator vakum. Residunya dilarutkan dalam 2 mL metanol.

Kromatografi lapis tipis preparative

Kromatografi lapis tipis preparatif dilakukan dengan mengambil fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom yang sejajar dengan standar sitokinin (*trans*-zeatin). Selanjutnya fraksi-fraksi tersebut ditotolkan berupa garis lurus pada lempeng kaca (20 × 20 cm) yang telah dilapisi dengan silika gel GF-254 dan disampingnya ditotolkan standar *trans*-zeatin dengan konsentrasi 100 ppm sebagai pembanding. Kromatogram dielusi dengan pelarut yang sama dengan KLT secara analitik, yaitu campuran isopropanol-larutan amonia-air (20:1:1) sampai permukaan naik setinggi garis pembatas. Daerah kromatogram yang sejajar dengan standar dikerok dan disuspensikan dalam metanol, kemudian setelah itu didekantasi dan supernatannya dipekatkan dengan evaporator vakum. Hasil yang diperoleh berupa padatan, kemudian residu yang diperoleh tersebut dilarutkan dalam 1 mL metanol.

Kromatografi cair kinerja tinggi

Sebanyak 20 μ L fraksi yang mengandung sitokinin yang telah dimurnikan dengan KLT preparatif, dianalisis dengan kolom C-18 nukleosil ODS fasa terbalik, detektor UV dengan $\lambda = 260$. Fasa gerak 35% metanol dalam 20 mM bufer asetat (pH 3,5) dengan kecepatan alir 0,7 mL/menit. Hasil KCKT fasa terbalik sampel dibandingkan dengan standar.

Pembuatan kecambah

Benih padi direndam dengan air dingin selama 12-24 jam, kemudian disimpan di tempat gelap dan lembab selama satu atau dua hari sampai benih padi menjadi kecambah.

Metode budidaya air

Wadah yang telah diberi kertas saring diteteskan larutan uji, kecuali blanko tanpa larutan uji. Setelah itu pelarut dibiarkan menguap sampai kering, selanjutnya diberi kapas, kemudian dimasukkan larutan nutrisi sebanyak 5-10 mL pada tiap-tiap wadah. Sebanyak tiga benih padi yang telah mulai berkecambah dengan ukuran yang sama ditanam

secara teratur. Wadah dimasukkan ke dalam kamar pertumbuhan yang bersuhu 29°C, berkelembaban tinggi dan disinari dengan cahaya ultraviolet. Pengukuran dilakukan setelah 14 hari penanaman kecambah dalam kamar pertumbuhan dan ditentukan rata-ratanya. Perbandingan panjang pelepah daun kedua pada tanaman yang telah diberi larutan uji terhadap blanko dinyatakan sebagai keaktifan zat pengatur pertumbuhan dalam larutan yang diperiksa. Apabila persentase keaktifan isolat sitokinin dan standar lebih besar 10% dibandingkan dengan kontrol, maka pengujian signifikan. Pengujian signifikan menunjukkan bahwa terdapat pengaruh perbedaan perlakuan (Sudjana 2002). Apabila pengujian signifikan, menunjukkan bahwa terdapat pengaruh penambahan isolat sitokinin dan standar *trans*-zeatin terhadap pertumbuhan tanaman padi. Hal ini menunjukkan bahwa isolat dan standar *trans*-zeatin memiliki aktivitas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kromatografi lapis tipis termasuk jenis kromatografi padat-cair yang banyak digunakan untuk proses pemisahan karena menggunakan peralatan yang sederhana sehingga tidak membutuhkan biaya yang tinggi, selain itu hanya membutuhkan waktu yang relatif singkat untuk analisis. Kromatografi lapis tipis juga dapat digunakan untuk memisahkan banyak senyawa mungkin sampai mencapai 60 sampel per pelat sehingga sampai saat ini masih terus digunakan sebagai teknik pemisahan (Scott 2008).

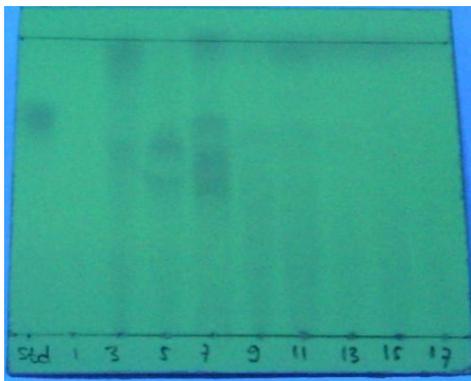
Kromatografi lapis tipis analitis dilakukan untuk mengetahui Rf standar *trans*-zeatin, untuk mencari sistem pelarut yang terbaik yang dapat memisahkan sitokinin dari campurannya dengan derajat resolusi yang tinggi. Setelah mencoba berbagai jenis pelarut, sistem pelarut isopropanol-larutan amonia-air (20:1:1) memberikan hasil pemisahan yang terbaik.

Pada KLT analitik ini sampel dan standar *trans*-zeatin ditotolkan pada plat silika gel GF-254 (fase diam) dengan pipa kapiler dan dielusi oleh campuran isopropanol-larutan amonia-air (20:1:1). Bejana kromatografi harus dijenuhkan dengan eluen terlebih dahulu sebelum dilakukan elusi agar pemisahan sempurna. Setelah dielusi, keberadaan noda diamati di bawah lampu UV dan nilai Rf standar ditentukan. Nilai Rf standar ditentukan dengan membandingkan jarak yang ditempuh standar dengan jarak tempuh pelarut. Setelah dilakukan perhitungan, didapat nilai Rf standar yaitu sebesar 0,65. Pergerakan Rf tergantung pada kualitas adsorben, ketebalan lapisan, kejenuhan tabung kromatografi, konsentrasi dan kualitas pelarut. Pada plat KLT analitik dapat dilihat bahwa pada sampel terdapat noda yang sejajar dengan standar tapi sampel tidak menunjukkan hanya ada satu noda. Hal ini menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa yang diinginkan namun sampel belum murni atau masih banyak senyawa yang terkandung dalam sampel sehingga perlu

dilakukan proses pemisahan lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi kolom adsorpsi.

Kromatografi kolom adsorpsi

Pada kromatografi kolom adsorpsi ini, fase gerak yang digunakan yaitu campuran isopropanol-larutan amonia-air (20:1:1) dan fase diam yang digunakan adalah silika gel G-60 (70-230 mesh). Sebelum dimasukkan ke dalam kolom fase diam silika gel G-60 terlebih dahulu dikembangkan oleh campuran fase gerak. Kolom gelas yang dilapisi kapas, kemudian diisi dengan matriks silika gel G-60 sampai homogen. Hal ini dilakukan agar tidak terdapat gelembung udara yang dapat menahan pergerakan eluen maupun sampel, sehingga proses pemisahan tidak optimal.



Gambar 1. Profil kromatogram lapis tipis fraksi hasil kromatografi kolom adsorpsi standar *trans*-zeatin (lajur 1), fraksi 1 (lajur 2), fraksi 3 (lajur 3), fraksi 5 (lajur 4), fraksi 7 (lajur 5), fraksi 9 (lajur 6), fraksi 11 (lajur 7), fraksi 13 (lajur 8), fraksi 15 (lajur 9), fraksi 17 (lajur 10) [fasa diam silika gel GF254, fasa gerak isopropanol-larutan amonia-air (20:1:1 v/v)], penampak noda sinar ultraviolet.

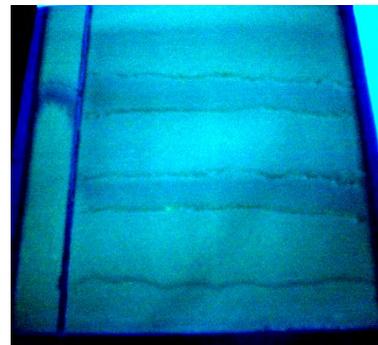
Residu dalam metanol dibuat menjadi granula dengan mencampurkannya dengan silika gel G-60. Sebanyak 0,4142 g sampel yang berbentuk granula dimasukkan ke dalam kolom yang telah homogen dan dielusi dengan campuran isopropanol-larutan amonia-air (20:1:1). Fraksi ditampung sebanyak 18 fraksi dengan volume tiap fraksi 5 mL. Masing-masing fraksi hasil kromatografi kolom adsorpsi ini dielusi dengan kromatografi lapis tipis menggunakan eluen yang sama untuk mengetahui pola noda tiap fraksi dan membandingkannya dengan standar *trans*-zeatin. Pola noda kromatografi lapis tipis ditunjukkan pada Gambar 1. Fraksi yang sejajar dengan standar *trans*-zeatin yaitu fraksi 7, kemudian dipekatkan dengan evaporator vakum pada suhu di bawah 40°C. Residu yang didapat dilarutkan dalam 5 mL metanol. Fraksi yang telah dipekatkan memiliki lebih dari satu noda, hal ini menunjukkan bahwa masih terdapat pengotor pada isolat hasil kromatografi kolom adsorpsi. Oleh karena itu, dilakukan proses isolasi selanjutnya untuk mendapatkan isolat sitokinin yang

lebih murni. Proses isolasi dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP).

Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Pada kromatografi lapis tipis ini, fase diam yang digunakan adalah silika gel GF 254 dan fase gerak yang digunakan adalah campuran isopropanol-larutan amonia-air (20:1:1). Sebelum isolat hasil kromatografi kolom adsorpsi dielusi dengan fase geraknya, tabung kromatografi terlebih dahulu dijenuhkan dengan fase gerak yang akan digunakan. Hal ini dilakukan untuk memperoleh komposisi fase diam tiap bagian tabung homogen, sehingga diperoleh hasil pemisahan yang baik. Sebanyak 20 mg isolat hasil kromatografi kolom adsorpsi ditotolkan pada plat dan plat tersebut dimasukkan dalam tabung kromatografi yang telah jenuh.

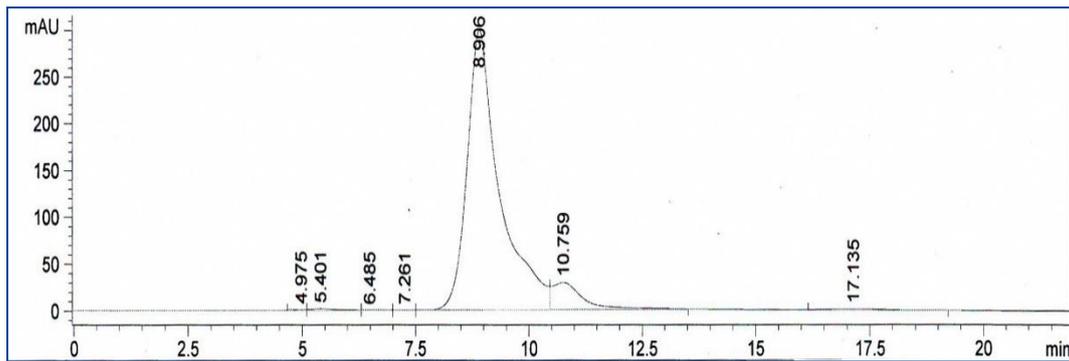
Hasil pemisahan ini (Gambar 2) menunjukkan bahwa pada plat KLTP terdapat noda yang berwarna ungu apabila dilihat pada lampu ultraviolet dengan panjang gelombang 254 nm. Bagian sampel yang sejajar dengan standar *trans*-zeatin dikerok dan disuspensikan dalam metanol. Setelah itu campuran disentrifugasi dan didekantasi untuk memisahkan isolat hasil KLTP dengan silika gel. Supernatan yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan evaporator vakum. Residu yang didapat dilarutkan dalam 1 mL metanol untuk dianalisis lebih lanjut dengan kromatografi cair kinerja tinggi fase terbalik.



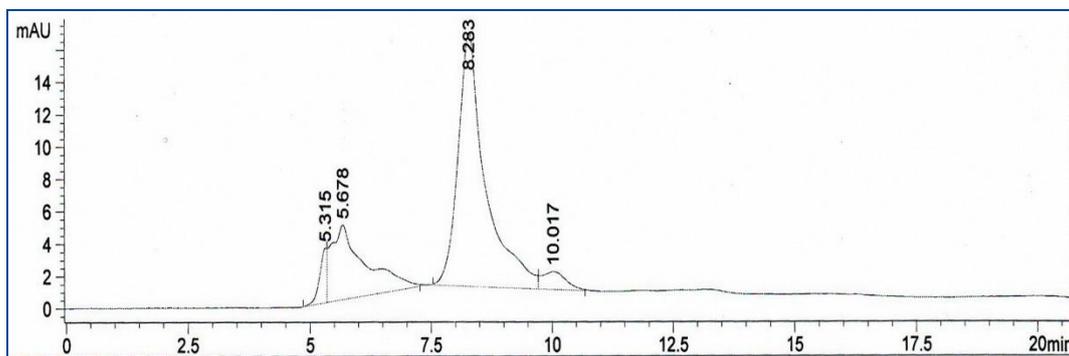
Gambar 2. Profil hasil KLTP [fasa diam silika gel GF254, fasa gerak isopropanol-larutan amonia-air (20:1:1 v/v)], (1) standar *trans*-zeatin (2) fraksi 7, penampak noda sinar ultraviolet.

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

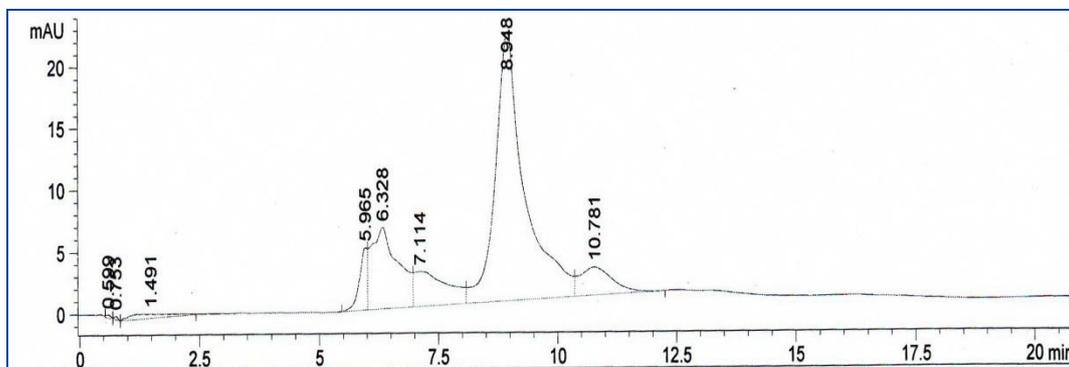
Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan teknik pemisahan secara modern. Pada sistem KCKT terjadi distribusi sampel antara fasa diam dan fasa gerak, dan juga terjadi migrasi diferensial komponen-komponen sampel dalam kolom kromatografi. Kromatografi cair kinerja tinggi dapat digunakan untuk penentuan kualitatif dan kuantitatif sampel. Keuntungan penggunaan teknik ini diantaranya adalah volume sampel yang diperlukan sedikit, daya pisah tinggi, memiliki kepekaan yang



Gambar 3. Kromatogram standar *trans*-zeatin hasil KCKT menggunakan kolom C-18 nukleosil ODS fase terbalik dan detektor UV dengan $\lambda = 260$ nm. Fase gerak adalah 35% metanol dalam 20 mM bufer asetat (pH 3,5) dengan kecepatan alir 0,7 mL/menit.



Gambar 4. Kromatogram isolat hasil KCKT menggunakan kolom C-18 nukleosil ODS fase terbalik dan detektor UV dengan $\mu = 260$ nm. Fase gerak adalah 35% metanol dalam 20 mM bufer asetat (pH 3,5) dengan kecepatan alir 0,7 mL/menit.



Gambar 5. Kromatogram isolat setelah adisi standar *trans*-zeatin hasil KCKT menggunakan kolom C-18 nukleosil ODS fase terbalik dan detektor UV dengan $\lambda = 260$ nm. Fase gerak adalah 35% metanol dalam 20 mM bufer asetat (pH 3,5) dengan kecepatan alir 0,7 mL/menit.

tinggi dan lebih cepat. Peralatan KCKT terdiri atas reservoir fasa gerak, pompa, kamar injeksi (injector), kolom pemisahan, dan detektor.

Prinsip kerja KCKT adalah pemisahan campuran dengan mengalirkan sampel dalam fasa gerak melalui kolom yang mengandung fasa diam padatan dengan menggunakan tekanan. Komponen-komponen bermigrasi sepanjang kolom pada kecepatan berbeda karena adanya perbedaan afinitas antara fasa diam

dan fasa gerak berdasarkan adsorpsi, ukuran dan muatan (Fifield & Kealey 1995).

Fase gerak yang digunakan dalam KCKT, 35% metanol dalam 20 mM bufer asetat (pH 3,5), terlebih dahulu disaring dengan penyaring milipore untuk menghilangkan pengotor berupa debu atau zat-zat padat terlarut. Setelah itu untuk menghilangkan gas-gas terlarut dilakukan dengan teknik 'degas'. Adanya gas dapat menimbulkan gelembung-gelembung yang

akan menyebabkan terjadinya pelebaran pita. Adanya gelembung dan pengotor berupa zat-zat padat terlarut juga dapat mengganggu kerja detektor. Sebelum dianalisis dengan KCKT, sampel dan standar juga terlebih dahulu disaring dengan penyaring milipore sampel dan standar.

Pada penelitian ini digunakan KCKT fase terbalik yaitu fase diam bersifat nonpolar dan fasa gerak bersifat polar. KCKT fasa terbalik ini berdasarkan kepada interaksi hidrofobik yang dihasilkan dari interaksi antara pelarut fase gerak yang relatif polar dan fase diam yang non polar. KCKT menggunakan kolom C-18 nukleosil ODS merk Alltec 8011-2 dengan panjang kolom 32,5 cm dan menggunakan detektor UV dengan $\lambda = 260$ nm. Fasa gerak yang digunakan yaitu 35% metanol dalam 20 mM bufer asetat (pH 3,5) dengan kecepatan alir 0,7 mL/menit. Pemisahan dilakukan dengan cara elusi isokratik yaitu elusi yang dilakukan dengan komposisi pelarut tetap.

Sebanyak 20 μ L standar *trans*-zeatin 100 ppm diinjeksikan pada alat KCKT kemudian dilanjutkan dengan sampel. Hasil analisis dengan KCKT menunjukkan terdapat satu puncak dominan dari standar *trans*-zeatin, yaitu pada waktu retensi 8,906 menit (Gambar 3). Hal ini karena standar hanya satu senyawa tunggal (*single compound*) yaitu *trans*-zeatin saja.

Pada kromatogram hasil KCKT isolat (Gambar 4) terdapat puncak dominan pada waktu retensi 8,283 menit dan dibandingkan dengan hasil KCKT standar terdapat puncak yang relatif sama yaitu pada waktu retensi 8,906 (Gambar 3). waktu retensi yang relatif sama yaitu dengan perbedaan 0,623 menit menunjukkan bahwa di dalam sampel yang diisolasi mengandung sitokinin. Adanya perbedaan waktu retensi sampel dan standar disebabkan oleh adanya puncak-puncak lain yaitu pada waktu retensi 5,315 menit dan 5,678 menit atau di dalam sampel masih terdapat pengotor yang menyebabkan terjadinya pergeseran waktu retensi isolat sitokinin. Hal ini disebabkan oleh adanya interaksi hidrofobik antara sitokinin dengan senyawa lain dalam sampel. Untuk memastikan apakah sitokinin jenis *trans*-zeatin terdapat pada isolat dan untuk mengetahui konsentrasi sitokinin yang terdapat dalam isolat, maka dilakukan adisi standar. Hasil KCKT sampel yang sudah ditambahkan standar (adisi standar) menunjukkan puncak dominan pada waktu retensi 8,948 (Gambar 5) dan memiliki bentuk puncak yang relatif sama dengan bentuk puncak sampel. Luas puncak yang dominan pada sampel bertambah setelah adisi standar. Hal ini menunjukkan bahwa di dalam isolat terdapat sitokinin.

Setelah dilakukan perhitungan dengan membandingkan luas puncak sampel sebelum diadisi standar dan sampel setelah adisi standar, maka dapat ditentukan konsentrasi sitokinin yang terdapat dalam ekstrak alga merah sebesar $6,26 \times 10^{-2}$ mg/g berat kering alga.

Uji Hayati Pengaruh Penambahan Sitokinin dari Ekstrak *G. coronopifolia* Pada Tanaman Padi (*O. sativa*)

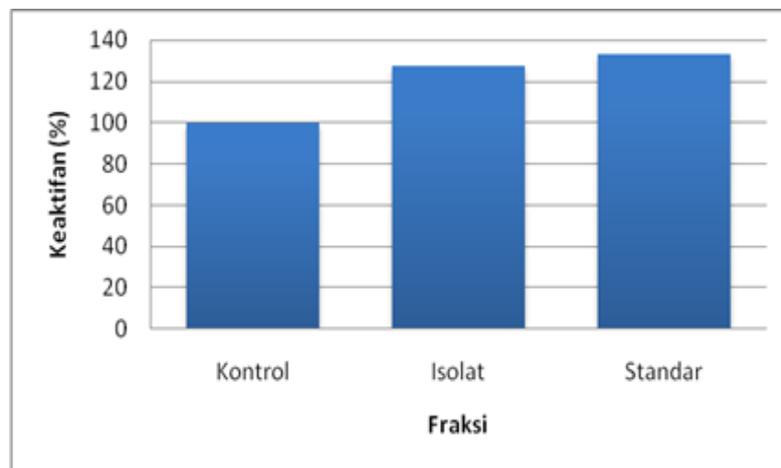
Tahapan uji hayati bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan sitokinin yang diperoleh dari ekstrak *G. coronopifolia* terhadap pertumbuhan tanaman padi (*O. sativa*) melalui media hidroponik. Pertumbuhan (growth) adalah jumlah total berbagai proses dalam organisme hidup yang memberikan peningkatan berat, massa dan volume yang tidak dapat balik (irreversible). Dalam penelitian ini digunakan parameter pertumbuhan panjang tajuk dan berat kering tajuk. Padi merupakan tanaman yang cukup cepat pertumbuhannya, sehingga dalam periode waktu yang relatif singkat efek sitokinin yang ditambahkan dapat teramati. Selain itu, padi merupakan salah satu tanaman penting di Indonesia yang menjadi sumber bahan makanan pokok, sehingga menjadi salah satu sasaran utama pengaplikasian hormon eksogen ini.

Padi yang termasuk kedalam keluarga rumput-rumputan ini dapat ditanam dari bijinya langsung atau melalui persemaian terlebih dahulu (Falah & Fajar 2000). Pada penelitian ini, terlebih dahulu bibit padi direndam dalam natrium hipoklorit untuk mensterilkannya dari bakteri-bakteri yang dapat memicu kebusukan, lalu dibilas dengan akuades dan disimpan dalam rendaman air di dalam ruangan yang gelap sampai berkecambah. Bibit padi yang dipilih adalah bibit padi yang tenggelam saat direndam dalam air dan setelah berkecambah memiliki ukuran yang seragam. Bibit padi yang sudah berkecambah ditanam ke dalam tabung pertumbuhan yang telah diberi sitokinin dari ekstrak *G. coronopifolia* dan larutan nutrisi yang mengandung berbagai macam komponen elemen mineral yang larut dalam air. Larutan nutrisi yang terdiri atas nutrisi makro dan mikro berfungsi sebagai pengganti unsur hara yang berasal dari tanah. Sebagai pembandingan bibit padi yang sudah berkecambah juga ditanam di dalam media yang tidak diberi sitokinin eksogen (kontrol). Kondisi pertumbuhan tanaman diatur pada 29°C, dengan kelembaban tinggi dan disinari lampu *biolight fluorescence* yang merupakan sumber sinar UV yang dibutuhkan tanaman untuk melakukan proses fotosintesis.

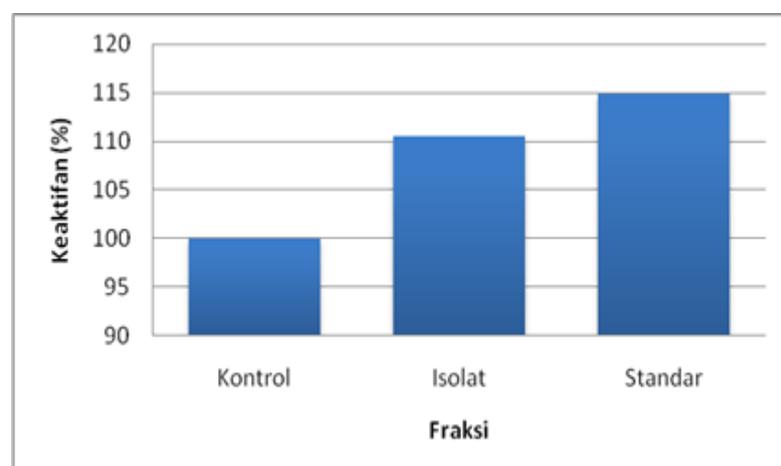
Pengukuran panjang tajuk tanaman dilakukan setiap 2 hari selama 14 hari pengamatan sedangkan berat kering tajuk ditentukan setelah 14 hari penanaman. Perbandingan panjang tajuk dan berat kering tajuk tanaman padi yang telah diberi larutan uji terhadap kontrol (yang tidak diberi larutan uji) dinyatakan sebagai keaktifan zat pengatur tumbuh dalam larutan yang diperiksa. Setelah dilakukan pengamatan selama 14 hari, dapat diketahui bahwa isolat sitokinin dan standar *trans*-zeatin memiliki aktivitas yang tinggi dibandingkan dengan kontrol. Hal ini dapat dilihat dari panjang tajuk yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (Gambar 6). Isolat sitokinin dinyatakan memiliki aktivitas



Gambar 6. Hasil uji hayati tanaman padi (*O. sativa*) dengan masa tanam 2 minggu menggunakan tiga perlakuan; (1) kontrol, (2) isolat sitokinin 19,6 ppm, (3) standar *trans*-zeatin 100 ppm



Gambar 7. Histogram keaktifan kontrol, isolat sitokinin 19,6 ppm, dan standar *trans*-zeatin 100 ppm pada uji hayati terhadap pertumbuhan tanaman padi pada hari ke-14 dengan parameter panjang tajuk.



Gambar 8. Histogram keaktifan kontrol, isolat sitokinin 19,6 ppm, dan standar *trans*-zeatin 100 ppm pada uji hayati terhadap pertumbuhan tanaman padi pada hari ke-14 dengan parameter berat kering tajuk

apabila persentase keaktifannya lebih besar dari 10% dibandingkan dengan kontrol. Oleh karena itu, persentase keaktifan fraksi kontrol, fraksi isolat 19,6 ppm, dan fraksi standar *trans*-zeatin 100 ppm dihitung. Dilihat dari parameter panjang tajuk, fraksi kontrol memiliki keaktifan sebesar 100%, fraksi isolat sitokinin memiliki keaktifan sebesar 122,12%, dan fraksi standar *trans*-zeatin memiliki keaktifan sebesar 133,33% (Gambar 7). Fraksi kontrol memiliki keaktifan 100% karena di dalam tanaman padi telah terdapat hormon sitokinin endogen. Dilihat dari parameter panjang tajuk, isolat sitokinin memiliki aktivitas karena mengalami peningkatan sebesar 22,12% dibandingkan dengan kontrol atau lebih dari 10% dibandingkan dengan kontrol. Peningkatan yang melebihi 10% menunjukkan pengujian signifikan, yang berarti bahwa terdapat pengaruh penambahan isolat sitokinin terhadap pertumbuhan tanaman padi, dilihat dari parameter panjang tajuk. Dilihat dari parameter berat kering tajuk, fraksi kontrol memiliki keaktifan sebesar 100%, fraksi isolat sitokinin sebesar 110,49%, dan fraksi standar *trans*-zeatin sebesar 114,81% (Gambar 8). Persentase keaktifan isolat sitokinin dan standar *trans*-zeatin yang lebih besar dari 10% dibandingkan dengan kontrol, menunjukkan bahwa pengujian signifikan. Pengujian signifikan berarti terdapat pengaruh penambahan isolat sitokinin dan standar *trans*-zeatin terhadap pertumbuhan tanaman padi. Hal ini menunjukkan isolat sitokinin dan standar *trans*-zeatin memiliki aktivitas dalam memicu pertumbuhan tanaman padi dilihat dari parameter berat kering tajuk. Hasil-hasil uji hayati tersebut menunjukkan bahwa isolat sitokinin yang diperoleh memiliki aktivitas dalam memicu pertumbuhan tanaman padi.

KESIMPULAN

Hasil isolasi dan identifikasi menunjukkan konsentrasi sitokinin (*trans*-zeatin) dalam ekstrak alga *G. coronopifolia* adalah $6,26 \times 10^{-2}$ mg/g berat kering.

Isolat alga merah *G. coronopifolia* dapat memicu pertumbuhan tanaman padi dilihat dari pertumbuhan panjang tajuk dan berat kering tajuk. Aktivitas isolat sitokinin dengan konsentrasi 19,6 ppm sebesar 122,12% dengan parameter panjang tajuk dan 110,49% dengan parameter berat kering tajuk.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, F. (2008). Isolasi Hormon Giberelin dari *Euchema cotonii* dan uji Hayatinya Terhadap Tanaman Padi (*Oryza sativa*) Sebagai Bioindikator. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Baker, B. (1996). *Plant nutrition from the sea: Marine products can be used to supplement soil nutrients*. Farmer to Farmer. 16.
- Baldwin, K. R. (2001). Soil fertility for organic farming. http://www.ncsu.edu/organic_farming_systems/news/soil_fertility.PDF.
- Davis, J. M., Brown, M.A.P., Evans, C. & Mansfield J. (2004). *The Integration of Foliar Applied Seaweed and Fish Products into the Fertility Management of Organically Grown Sweet Peppers*. www.ofrf.org.
- Ergün, N., Topcuoğlu, Ş.F. & Yildiz, A. (2002). Auxin (Indole-3-acetic acid), Gibberellic acid (GA 3), Abscisic Acid (ABA) and Cytokinin (Zeatin) Production by Some Species of Mosses and Lichens. *Turkish Journal of Botany*. 26(1): 13-18.
- Falah, S. & Fajar, M.A. (2000). Produksi Tanaman dan Makanan dengan Menggunakan Hidroponik Sederhana hingga Otomatis. IO PPI Jepang [serial online]. <http://io.ppi-jepang.org/article.php?id=200>.
- Fifield, F.W. & Kealey, D. (1995). *Principles and Practice of Analytical Chemistry*. Blackie Academic & Professional. Glasgow.
- Lijun, H. (2006). The Auxin Concentration in Sixteen Chinese Marine Algae. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 24(3): 329-332.
- Loveless, A.R. (1983). *Prinsip-prinsip Biologi Tumbuhan Untuk Daerah Tropik*. Diterjemahkan oleh K. Kartawinata, S. Danimiharja & U. Soetisna. Gramedia. Jakarta.
- Salisbury, F.B. & Ross, C.W. (1995). *Fisiologi Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh D.R. Lukman & Sumaryono. Penerbit ITB. Bandung.
- Scott, R.P.W. (2008). *Thin Layer Chromatography*. Library4Science. Letchworth Garden City, UK.
- Tampubolon, E.V. (2008). Isolasi dan Identifikasi Auksin dari *Euchema cotonii* dan Uji Hayatinya Pada Tanaman Padi (*Oryza sativa*). Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Padjadjaran. Bandung.