

AKLIMATISASI DINI MASSA PROTALUS TUMBUHAN PAKU BAHAN OBAT (*Cibotium barometz* (L.) J. Sm.) HASIL KULTUR SPORA SECARA *IN VITRO*

Prothalli Rapid Acclimatization of the Medicinal Fern *Cibotium barometz* (L.) J. Sm. obtained from *In Vitro* Culture of Spores

Yupi Isnaini* dan Titien Ngatinem Praptosuwiryo

Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya-LIPI Jl. Ir. H. Juanda 13, Bogor 16003

*Email: yupinurfauzi@yahoo.com

Diterima/Received: 31 Maret 2016; Disetujui/Accepted: 11 Mei 2016

Abstract

The golden chicken fern, *Cibotium barometz* (L.) J. Sm (Cibotiaceae), is an important export commodity used in both traditional and modern medicines. The population of *C. barometz* in some countries has declined rapidly due to over-exploitation. Therefore, this species has been included in Appendix II of CITES (Convention on International Trade in Endangered Species) since 1976. The Center for Plant Conservation – Bogor Botanic Gardens-LIPI, is striving to conserve this species *ex situ*, and has started propagating it through *in vitro* spore culture. However, *C. barometz* sporophyte formation from *in vitro* cultured spores takes a long time. Thus, we sought to acclimatize prothalli masses (gametophytes) that had not yet developed sporophytes, in an attempt to accelerate sporophyte formation. Acclimatization experiments were carried out in two stages. The first experiment used prothalli masses aged 8 months after sowing, and tested 14 kinds of acclimatization media in a transparent plastic box. The second experiment tested prothalli masses aged 15 months with the four best media selected from the first experiment, namely: (1) minced roots of the tree fern *Cyathea contaminans* (APC); (2) APC: charcoaled rice husk (ASP) in a 1: 1 ratio; (3) APC: cocopeat (CP) in a 1:1 ratio, and (4) APC: ASP:CP (1:1:1), using a plastic box with a translucent plastic lid. Results of the second experiment showed that the best medium for acclimatization is a mixed media composed of minced roots of the tree fern *Cyathea contaminans*, charcoaled rice husk, and cocopeat (1:1:1). Up to 80% of the prothalli masses grew on the three ingredient mixed media, resulting in the formation of as many as 574 sporophytes.

Keywords: *Cibotium barometz*, early acclimatization, *in vitro* spore culture, medicinal fern, prothallus

Abstrak

Pakis emas, *Cibotium barometz* (L.) J. Sm (Cibotiaceae), merupakan salah satu komoditi ekspor penting untuk bahan obat tradisional maupun modern. Populasi *C. barometz* di beberapa negara telah menurun secara cepat karena eksploitasi berlebihan. Oleh karena itu, jenis ini telah dimasukkan dalam Appendix II CITES (Convention on International Trade in Endangered Species) sejak tahun 1976. Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya-LIPI berusaha keras untuk melestarikan jenis ini secara *ex situ* dan memperbanyak jenis ini melalui kultur spora

secara *in vitro*. Pembentukan sporofit *C. barometz* dari kultur spora dalam kondisi *in vitro* membutuhkan waktu cukup lama. Kultur yang masih berupa massa protalus (gametofit) dan belum menghasilkan sporofit dicoba diaklimatisasi untuk mempercepat pembentukan sporofit. Percobaan aklimatisasi dilakukan dalam dua tahap. Percobaan tahap pertama menggunakan massa protalus berumur 8 bulan setelah semai dan 14 jenis media aklimatisasi dalam kotak plastik tembus cahaya. Percobaan tahap kedua menggunakan massa protalus berumur 15 bulan setelah semai dan empat jenis media yang terbaik dari percobaan pertama, yaitu: (1) cacahan akar pakis *Cyathea contaminans* (APC); (2) APC: arang sekam padi (ASP) (1:1); (3) APC : cocopeat (CP) (1:1) dan (4) APC : ASP : CP (1:1:1), dalam sungkup kotak plastik tertutup plastik tembus cahaya. Hasil percobaan kedua menunjukkan bahwa media terbaik untuk aklimatisasi adalah media campuran cacahan akar pakis *Cyathea contaminans*, arang sekam padi dan cocopeat (1:1:1). Persentase massa protalus yang tumbuh dan berkembang pada media campuran ketiga bahan tersebut mencapai 80% dengan jumlah total sporofit yang terbentuk sebanyak 574.

Kata kunci : Aklimatisasi dini, *Cibotium barometz*, kultur spora *in vitro*, protalus, tumbuhan paku bahan obat

PENDAHULUAN

Cibotium barometz dikenal dengan beberapa nama daerah, seperti pakis simpei, pakis emas, pakis monyet, *gou ji* (Chinese) dan Golden Chicken Fern (Rugayah *et al.*, 2009). *Cibotium barometz* dilaporkan tumbuh di tanah yang asam (Zhang *et al.*, 2008; Praptosuwiryo *et al.*, 2011), di hutan primer dan sekunder di lereng-lereng bukit atau gunung pada ketinggian 600–800 m dpl (van Steenis and Holttum, 1982; Praptosuwiryo *et al.*, 2011) dan di area hutan terbuka pada ketinggian sampai 1600 m dpl (Nguyen *et al.*, 2009; Praptosuwiryo *et al.*, 2011). Jenis ini tersebar di Cina, India, bagian barat Semenanjung Malaya, Indonesia (Jawa dan Sumatra), Myanmar, Thailand, Vietnam, Jepang (Zhang *et al.*, 2008), Taiwan (van Steenis and Holttum, 1982), Laos dan Philipina (Nguyen *et al.*, 2009).

Cibotium barometz telah lama digunakan di Asia untuk bahan obat tradisional (Praptosuwiryo, 2003). Rimpang dari tumbuhan ini dipanen dari alam untuk bahan obat rematik dan tyfus (Puri, 1970; May, 1978; Praptosuwiryo 2003; Nguyen *et al.*, 2009). Bulu yang menyelimuti rimpang dan tangkai daunnya digunakan untuk mempercepat pembekuan darah (Praptosuwiryo, 2003).

Selain dimanfaatkan sebagai bahan obat atau herbal, *C. barometz* juga dimanfaatkan untuk berbagai keperluan. Rimpangnya yang mengandung

tepung digunakan sebagai sumber makanan (Lemmens *et al.*, 1989). Bulunya juga dimanfaatkan untuk isi bantal (Chandra, 1970; van Steenis and Holttum, 1982) atau sebagai bahan pengepakan (May, 1978). Di pasar hortikultura, paku pohon ini juga digunakan sebagai tanaman hias dalam pot atau hiasan luar ruangan, sebagai pengisi taman, dan akarnya digunakan untuk media tumbuh anggrek (Oldfield, 1995).

Banyaknya manfaat *C. barometz* sebagai bahan obat memicu maraknya pencarian bulu atau rimpangnya di hutan untuk diperdagangkan. Tumbuhan ini di Indonesia pada tahun 2005-2007 juga sempat marak diperdagangkan sebagai tanaman hias dalam pot. Walau demikian, tumbuhan paku ini masih berstatus sebagai tumbuhan liar, usaha-usaha budidaya belum dilakukan secara intensif. Sementara itu kebutuhan ekspor nasional *pili cibotii* (bulu *C. barometz*) di Indonesia masih mengandalkan hasil eksploitasi dari alam. Oleh karena itu, sejak tahun 1976 jenis ini dimasukkan dalam APPENDIX II CITES sehingga pemanfaatan *C. barometz* ditentukan berdasarkan sistem kuota.

Saat ini populasi-populasi lokal *C. barometz*, termasuk di Sumatera, mengalami tekanan keterancaman disebabkan oleh maraknya pengalihan fungsi lahan dan eksploitasi yang berlebihan untuk perdagangan. Oleh karena itu, kajian aspek-aspek budidaya *C. barometz* sangat diperlukan untuk

mengantisipasi kepunahan jenis ini dan memenuhi keperluan bibit untuk keperluan domestikasi dan reintroduksi. Teknologi kultur *in vitro* dapat digunakan sebagai salah satu metode pilihan untuk perbanyakan dan konservasi *C. barometz*.

Paku ini dapat diperbanyak secara vegetatif dari rimpang atau secara generatif dari sporanya. Usaha perbanyakan vegetatif dari rimpang dan perbanyakan konvensional dengan semai spora pada media alami telah dilakukan di Kebun Raya Bogor sejak tahun 2011, tetapi jumlah bibit hasil perbanyakannya yang telah siap dipindah semai (*hardening*) masih jauh dari yang diharapkan dan hal ini membutuhkan waktu cukup lama (lebih dari 12 bulan). Perbanyakan *C. barometz* dengan teknik kultur spora *in vitro* telah dilakukan menggunakan media dasar Murashige & Skoog dengan modifikasi setengah konsentrasi ($\frac{1}{2}$ MS). Perkecambahan spora pada media perlakuan $\frac{1}{2}$ MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2 mg/l BAP dan 0,01 mg/l NAA menunjukkan hasil yang baik, tetapi dalam perkembangannya untuk menghasilkan sporofit masih membutuhkan waktu lebih lama (minimal 17 bulan). Selanjutnya untuk menghasilkan bibit yang siap tanam di lapangan masih membutuhkan tahapan aklimatisasi. Oleh karena itu, percobaan aklimatisasi hasil kultur spora yang masih berupa protalus dilakukan agar proses perubahan dari fase protalus menjadi fase sporofit lebih cepat sehingga bibit *C. barometz* pun lebih cepat diperoleh.

Protalus merupakan bentuk fase siklus kehidupan dari tumbuhan paku dan lumut yang akan menghasilkan organ reproduksi (gametofit). Protalus paku dapat hidup bebas, bentuknya kecil dan tipis, umumnya memiliki tebal satu sel. Gametofit pada tumbuhan paku terutama berbentuk talus-menjantung, namun pada beberapa takson berbentuk seperti umbi, seperti sabuk, pita atau seperti membenang (Nayar & Kaur 1971; Imaichi 2013). Bentuk gametofit yang bervariasi kemungkinan merupakan hasil adaptasi evolusi terhadap habitat-habitat tempat gametofit tumbuh (Imaichi, 2013). Gametofit *C. barometz* dewasa, telah terbentuk anteridium dan arkegonium, biasanya

berbentuk talus-menjantung simetris (Chen, 2007; Praptosuwiryo *et al.*, 2015).

Aklimatisasi dini protalus adalah perpindahan dan penyesuaian hidup dari protalus dalam botol gelas kultur *in vitro* menuju kultur *ex vitro* dalam rumah kaca atau rumah paranet. Kebanyakan aklimatisasi pada perbanyakan tumbuhan paku melalui kultur spora *in vitro* atau hasil kultur dari bagian jaringan lainnya dari tumbuhan paku dilakukan pada saat gametofit-gametofit dalam botol kultur telah menghasilkan sporofit muda yang memiliki dua atau lebih daun primer dan akar (Goller & Rybczynski, 2007; Sara & Manickam, 2007; Winarto & Silva, 2012; Bharati *et al.*, 2013; Khan *et al.*, 2008; Rogers & Banistar, 1992; Liao & Wu, 2011). Sebenarnya media terbaik untuk aklimatisasi sporofit beberapa paku telah diketahui. Media aklimatisasi untuk sporofit tumbuhan paku lainnya seperti paku sarang burung (*Asplenium nidus*) diantaranya adalah pasir, pupuk kandang, arang dan kombinasi ketiganya (Khan *et al.*, 2008), untuk sporofit paku tanduk rusa hasil perbanyakan *in vitro* adalah sphagnum, vermikulit, sabut dan campuran antara vermikulit dan sabut (Liao & Wu, 2011), sedangkan untuk aklimatisasi paku berpotensi obat lainnya seperti *Pronephrium triphyllum* dan *Sphaerostephanos unitus* hasil kultur spora, digunakan media campuran tanah steril: pasir: pupuk kandang dengan perbandingan tertentu (Marimuthu & Manickam, 2011).

Pembentukan embrio pada kultur spora *in vitro* biasanya terjadi 30 hari atau lebih setelah gametofit dewasa terbentuk, selanjutnya proses ini diikuti oleh pembentukan sporofit muda berdaun primer 1-2 yang lengkap dengan perakarannya (Sara & Manickam, 2007; Marimuthu & Manickam, 2011). Aklimatisasi *C. barometz* hasil kultur *in vitro* yang masih dalam bentuk protalus belum pernah dilaporkan, sehingga media untuk aklimatisasinya juga belum diketahui. Penelitian ini bermaksud untuk memahami salah satu tahap dari siklus hidup *C. barometz* dengan melakukan uji coba aklimatisasi dini protalus dengan kombinasi beberapa media alami. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat

memberi informasi dan acuan yang berguna untuk usaha-usaha percepatan budidaya, pengelolaan dan penyelamatan *C. barometz*. Tujuan khusus dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan protalus hasil kultur spora *in vitro* untuk beradaptasi di lingkungan luar laboratorium dan mendapatkan media terbaik untuk aklimatisasi calon bibit *C. barometz*.

BAHAN DAN METODE

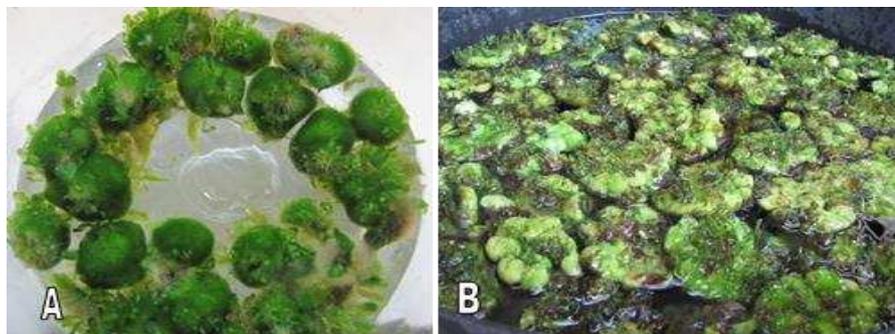
Penelitian dilakukan pada bulan Maret 2013 sampai Maret 2014 di dalam rumah paranet aklimatisasi di Laboratorium Kultur Jaringan, Kebun Raya Bogor (Lab. KULJAR-KRB). Penelitian ini dibagi menjadi dua tahap percobaan. Percobaan pertama merupakan aklimatisasi protalus yang berumur 8 bulan pada 14 macam media aklimatisasi. Percobaan pertama dilakukan dari tanggal 13 Maret 2013 sampai 4 Maret 2014. Percobaan tahap kedua merupakan aklimatisasi protalus yang berumur 15 bulan pada empat media terbaik pada percobaan pertama. Percobaan kedua dilakukan dari tanggal 18 Oktober 2013 sampai dengan 7 Maret 2014.

Bahan tanaman yang digunakan adalah massa protalus hasil kultur spora *C. barometz*. Spora diambil dari tanaman koleksi Kebun Raya Bogor dengan nomor koleksi Titien Ng. Praptosuwiryo 2509 yang ditanam di Vak XIX.C. Spora disemai secara *in vitro* dengan media $\frac{1}{2}$ MS. Percobaan pertama menggunakan protalus yang berumur 8 bulan (Gambar 1.A) dan percobaan kedua menggunakan

protalus berumur 15 bulan setelah semai (Gambar 1.B.). Kumpulan atau massa protalus hasil kultur spora *in vitro* *C. barometz* dikeluarkan dari botol kultur kemudian dibersihkan bagian bawahnya dari sisa-sisa media agar yang menempel dengan air mengalir.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Bahan yang digunakan untuk perlakuan adalah media aklimatisasi, berupa arang sekam, cocopeat, cacahan batang pakis dan kompos bioposca produk Kebun Raya Bogor dan hasil campurannya. Komposisi media aklimatisasi yang digunakan pada percobaan tahap pertama ada 14 macam (Tabel 1). Percobaan tahap kedua menggunakan empat media terbaik dari percobaan pertama, yaitu media yang memberikan respon baik, yaitu pakis (sabut akar pakis *Cyathea* spp.), arang sekam:cocopeat (1:1), pakis:cocopeat (1:1), dan kombinasi arang sekam:cocopeat:pakis (1:1:1). Sebelum digunakan, semua media direndam dengan air mendidih untuk memperkecil terjadinya kontaminasi. Media dibiarkan sampai dingin sebelum digunakan.

Percobaan pertama dilakukan dengan menanam protalus yang telah bersih pada media aklimatisasi yang telah disiapkan di kotak plastik mika bening. Setiap perlakuan terdiri dari tiga kotak plastik mika sebagai ulangan dan setiap ulangan berisi 16 kumpulan protalus (masing-masing memiliki tebal \pm 0,5 cm dan diameter \pm 2-3 cm). Kotak plastik yang telah ditanami protalus *C. barometz* selanjutnya ditutup dan dirapatkan dengan selotip untuk menjaga kelembabannya.



Gambar 1. Massa protalus *Cibotium barometz* hasil kultur spora *in vitro*. A. 8 bulan setelah semai; B. 15 bulan setelah semai.

Tabel 1. Komposisi media yang digunakan untuk aklimatisasi protalus *Cibotium barometz*

Kode	Komposisi Media	Kode	Komposisi Media
1	Arang sekam (AS)	8	C : P (1:1)
2	Cocopeat (C)	9	C : B (1:1)
3	Pakis (P)	10	P : B (1:1)
4	Bioposca (B)	11	AS : C : P (1:1:1)
5	AS : C (1:1)	12	AS : C : B (1:1:1)
6	AS : P (1:1)	13	C : P : B (1:1:1)
7	AS : B (1:1)	14	AS : C : P : B (1:1:1:1)

Percobaan kedua dilakukan dengan menanam protalus yang telah bersih pada media perlakuan dalam bak plastik dan kemudian disungkup dengan plastik bening untuk mempertahankan kelembabannya. Selanjutnya, bak disimpan di dalam rumah kaca. Setiap perlakuan terdiri dari lima bak plastik sebagai ulangan yang berisi 30 potongan massa protalus.

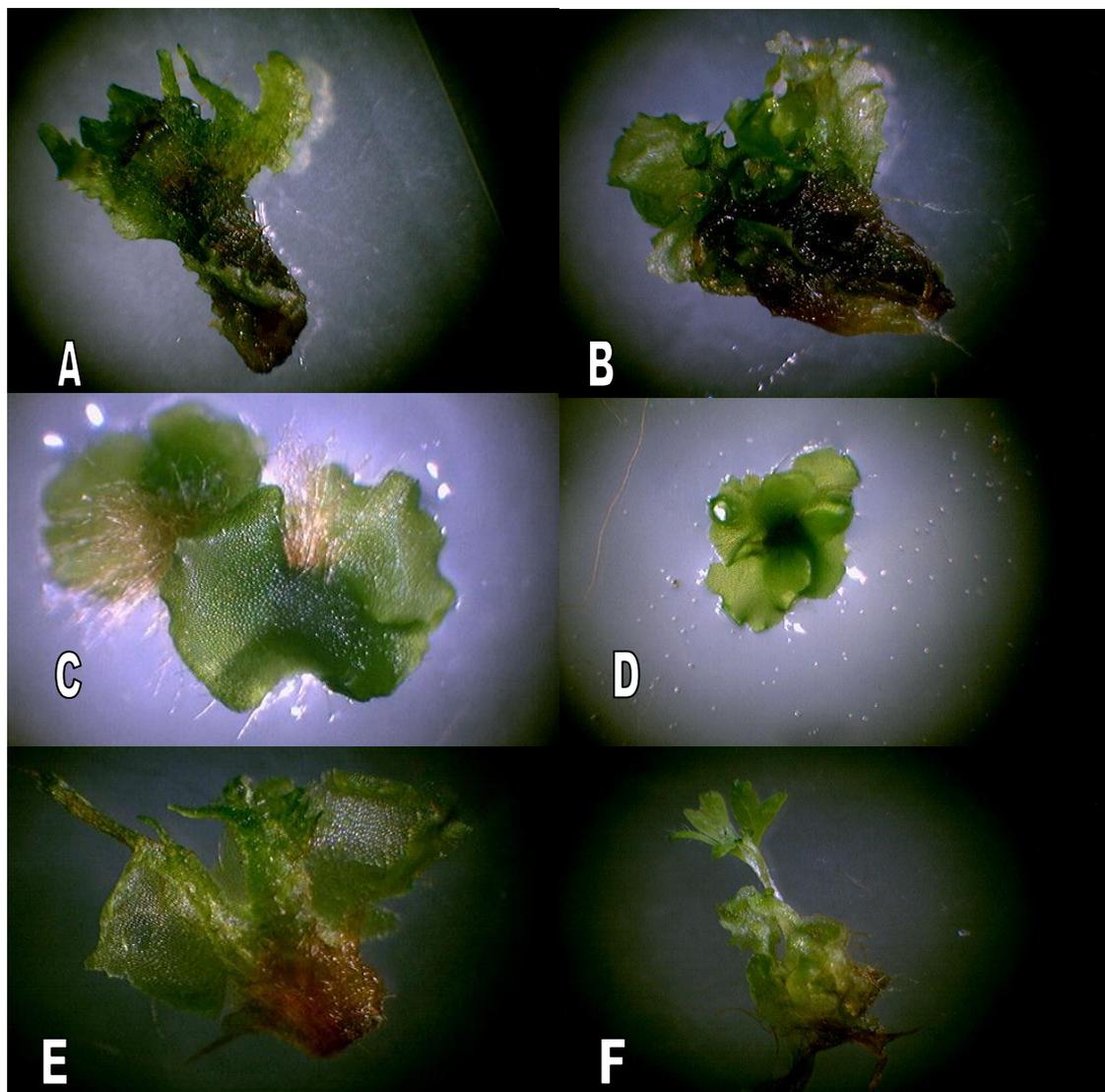
Pengamatan dilakukan setiap minggu untuk percobaan tahap pertama. Pengamatan pertama dilakukan setelah satu bulan aklimatisasi dengan bantuan lup 10x. Pengamatan percobaan tahap kedua dilakukan sebulan sekali selama lima bulan dihitung dari hari pertama aklimatisasi.

Parameter yang diamati pada percobaan tahap pertama yaitu: (1) Persentase jumlah massa protalus hidup; (2) Jumlah gametofit raksasa; (3) Jumlah gametofit besar dan (4) Jumlah gametofit kecil. Gametofit raksasa adalah gametofit berukuran lebih dari 10 x 9 mm², berbentuk hati normal atau hati memanjang atau abnormal, bercuping-cuping, tebal lebih dari 1 sel dan gemiferus (menghasilkan tunas-tunas yang dapat membentuk protalus baru) (Gambar 2.A-B). Gametofit besar adalah gametofit berukuran 5-10 x 5-9 mm², berbentuk hati normal atau hati memanjang dan telah menghasilkan organ kelamin jantan (anteridium) dan organ kelamin betina (arkegonium) (Gambar 2.C). Gametofit kecil berukuran kurang dari 5 x 5 mm², berbentuk seperti

sendok (spatula) atau hati normal, namun belum menghasilkan organ kelamin (Gambar 2.D) Parameter yang diamati pada percobaan tahap kedua adalah jumlah sporofit yang muncul dan persentase sporofit yang hidup. Fase sporofit ditandai dengan munculnya daun muda pertama pada gametofit (Gambar 2.E). Data kuantitatif diuji dengan ANOVA. Jika ada perbedaan yang nyata maka perbedaan reratanya diuji dengan Uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan pada percobaan aklimatisasi menggunakan protalus yang berumur 8 bulan menunjukkan jumlah massa protalus yang hidup di media aklimatisasi hanya berkisar antara 2,08% sampai 27,77% (Tabel 2). Hasil aklimatisasi ini masih sangat rendah mungkin karena media aklimisasinya yang tidak sesuai. Penelitian mengenai aklimatisasi dini protalus *Dicksonia sellowiana* Hook (Dicksoniaceae) pada media alami memperlihatkan bahwa jenis media berpengaruh nyata terhadap produksi sporofit. Gametofit *D. sellowiana* menghasilkan 84,67% sporofit setelah berumur 245 hari pada media tanah merah dengan penambahan kompos; pada media tanah steril *hapludult (distroferric red nitosoil)* tanpa penambahan kompos pembentukan sporofit lebih lambat (Christina *et al.*, 2009).



Gambar 2. Fase gametofit dan sporofit *Cibotium barometz*. A-B. Gametofit raksasa. A ($15 \times 16 \text{ mm}^2$); B ($10 \times 11 \text{ mm}^2$); C. Gametofit besar ($5 \times 5 \text{ mm}^2$); D. Gametofit kecil ($4 \times 2 \text{ mm}^2$). E-F. Gametofit yang telah menghasilkan sporofit dengan satu daun pertama ($5 \times 5 \text{ mm}^2$).

Media yang paling baik untuk aklimatisasi kultur *C. barometz* yang masih dalam fase protalus muda umur 8 bulan adalah media pakis atau berupa campuran dengan *cocopeat* atau arang sekam atau keduanya. Media campuran pakis dan arang sekam (1:1) terbukti cukup baik sebagai media untuk kultur spora konvensional atau *ex vitro*, perkecambahan spora menjadi gametofit sampai sporofit muda terbentuk pada pakis sarang burung (*Asplenium nidus*) (Praptosuwiryo, 2010). Pembentukan sporofit dari gametofit membutuhkan ketersediaan air pada

media untuk sarana perjalanan spermatozoid dari anteridium menuju sel telur yang terdapat dalam arkegonium. Media campuran akar pakis dan arang sekam padi mampu menyimpan air yang cukup untuk kebutuhan gametofit. Hal-hal penting yang harus dipertimbangkan ketika menyiapkan media aklimatisasi tumbuhan paku selain kandungan nutrisi, adalah kemampuan media menahan air, tidak terkontaminasi, serta drainase dan aerasinya baik (Mazunder *et al.*, 2011).

Tabel 2. Jumlah tanaman hidup dan jumlah gametofit yang terbentuk 1 bulan setelah aklimatisasi dari protalus *Cibotium barometz* yang berumur 8 bulan setelah semai

Media Aklimatisasi	Jumlah tanaman hidup (%)	Jumlah gametofit Raksasa	Jumlah gametofit Besar	Jumlah gametofit Kecil
Arang sekam (AS)	11,81 ^d	1,33 ^b	8,33 ^j	3,33 ^{cd}
Cocopeat (C)	20,83 ^d	1,83 ^b	4,72 ^{fg}	11,50 ^h
Pakis (P)	27,77 ^d	2,25 ^b	6,97 ^{ij}	21,94 ^h
Bioposca (B)	13,19 ^d	1,33 ^b	2,28 ^{bc}	2,33 ^{ab}
AS : C	17,35 ^d	1,25 ^b	3,00 ^{cd}	4,83 ^{ef}
A : P	11,10 ^{cd}	1,50 ^b	5,00 ^{gh}	3,5 ^{de}
AS : B	2,08 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
C : P	27,77 ^d	1,56 ^b	17,25 ^j	25,75 ^h
C : B	8,33 ^{cd}	1,00 ^{ab}	3,00 ^{cd}	7,00 ^{gh}
P : B	10,42 ^d	1,33 ^b	3,83 ^{de}	5,42 ^{fg}
A S : C : P	19,44 ^d	1,83 ^b	3,33 ^{de}	9,08 ^h
A S : C : B	2,08 ^a	0,00 ^a	1,00 ^{ab}	0,00 ^a
C : P : B	4,17 ^{bc}	0,00 ^a	0,00 ^a	3,00 ^{bc}
A S : C : P : B	13,90 ^d	1,17 ^b	5,42 ^{hi}	10,04 ^h

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada uji Duncan pada taraf 5%.

Massa protalus yang diaklimatisasi pada percobaan kedua berumur lebih tua dibandingkan protalus yang digunakan pada percobaan pertama sehingga kemampuan tumbuh protalus *C. barometz* pada percobaan kedua jauh lebih baik dibandingkan hasil percobaan pertama. Hasil percobaan kedua menunjukkan perkembangan yang cukup baik dibandingkan hasil percobaan sebelumnya. Jumlah tanaman atau protalus yang tumbuh setelah aklimatisasi berkisar antara 28,6%-80,6% dan jumlah sporofit yang terbentuk di setiap media perlakuan berkisar antara 16 - 574 protalus (Gambar 3).

Media terbaik untuk aklimatisasi protalus *C. barometz* yang berumur 15 bulan adalah media campuran pakis, arang sekam dan cocopeat (1:1:1). Persentase tanaman yang tumbuh pada media campuran ketiga bahan tersebut mencapai 80,6% dengan jumlah sporofit yang terbentuk sebanyak 574 sporofit. Campuran ketiga jenis media tersebut dapat mempertahankan keberadaan air dengan drainase dan aerasi yang sesuai dengan kebutuhan tumbuhan paku pada umumnya (Mazunder *et al.*, 2011).

Jumlah protalus yang tumbuh pada penelitian ini masih lebih rendah dibandingkan persentase hidup hasil aklimatisasi paku tanduk rusa *Platyserium*

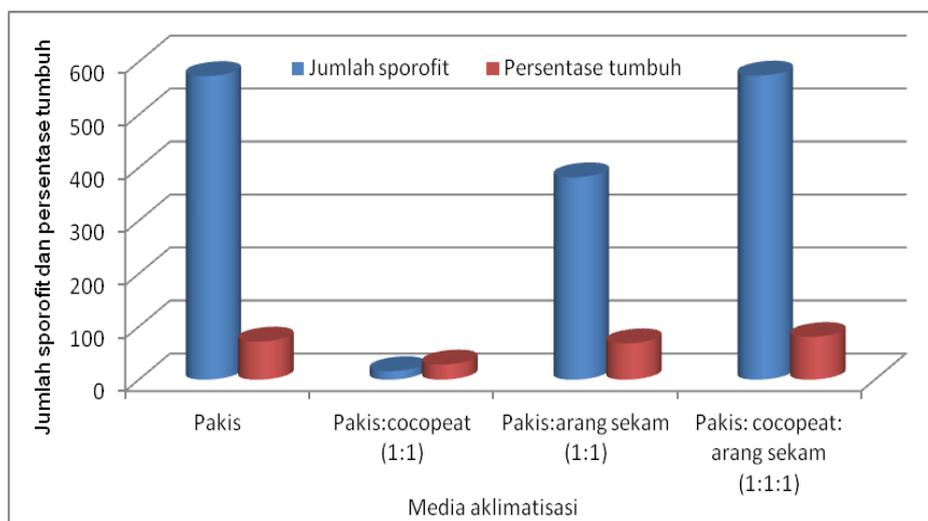
bifurcatum hasil kultur *in vitro* yang telah berbentuk sporofit atau tanaman sempurna di media sphagnum (95%), vermikulit (88%), peat (90%), dan campuran vermikulit dan peat (95%) (Liao & Wu, 2011), tetapi hasil penelitian ini lebih baik dibandingkan hasil aklimatisasi sporofit paku *Pronophrinum triphyllum* dan *Sphaerostephanus unitus* hasil kultur spora *in vitro* yang telah berbentuk sporofit muda (Marimuthu & Manickam, 2011). Hasil penelitian tersebut menunjukkan hanya 73,5% *Pronophrinum triphyllum* dan 78% *Sphaerostephanus unitus* hasil kultur spora yang bertahan hidup setelah aklimatisasi di media campuran pasir: tanah: pupuk kandang (1:2:1). Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa hasil kultur spora *in vitro* *C. barometz* yang masih berbentuk protalus dapat diaklimatisasi tanpa harus menunggu semua organ kelaminnya terbentuk. Walaupun demikian, usaha aklimatisasi ini membutuhkan media yang tepat untuk menunjang keberhasilannya.

Media yang cocok untuk aklimatisasi protalus hasil kultur spora *C. barometz* adalah media yang mampu memberikan ruang untuk pertumbuhan akar. Media yang terlalu padat seperti kompos bioposka dan campurannya dengan cocopeat maupun arang sekam tidak cukup baik untuk mendukung keberhasilan aklimatisasi protalus *C. barometz*.

Media yang paling mendukung pertumbuhan protalus *C. barometz* adalah media yang mengandung pakis secara tunggal atau kombinasi dengan media lainnya.

Sporofit yang terbentuk selama proses aklimatisasi selanjutnya dipindahkan ke gelas plastik

dan dimasukkan ke dalam tabung melamin bening untuk tetap menjaga kelembabannya. Bibit *C. barometz* yang telah membentuk sporofit ini selanjutnya mengalami pertumbuhan yang sangat pesat dan telah siap untuk dipindah ke pot atau polibag untuk pembesaran bibit (Gambar 4).



Gambar 3. Persentase jumlah kultur yang tumbuh dan jumlah sporofit *Cibotium barometz* yang terbentuk setelah aklimatisasi selama 5 bulan.



Gambar 4. Sporofit *Cibotium barometz* yang terbentuk 5 bulan pasca aklimatisasi dari protalus umur 15 bulan.

KESIMPULAN

Protalus hasil kultur *in vitro* spora *C. barometz* dapat diaklimatisasi dengan media tunggal dari akar pakis atau media campuran akar pakis + arang sekam atau pakis + cocopeat + arang sekam, dengan media terbaik berupa campuran pakis, arang sekam dan cocopeat (1:1:1). Hasil aklimatisasi menggunakan protalus yang berumur 8 bulan menunjukkan 2,08%-27,77% jumlah massa protalus yang hidup. Aklimatisasi dari protalus umur 15 bulan menunjukkan 28,6%-80,6% hidup dengan jumlah sporofit yang terbentuk di setiap media perlakuan berkisar antara 16-574 protalus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Kegiatan Kompetitif/Program Unggulan LIPI 2013–2015 yang berjudul “Valuasi Varian Pakis Simpei (*Cibotium barometz*) sebagai Tumbuhan Penghasil Bahan Obat”. Penulis mengucapkan terima kasih kepada staf teknisi Laboratorium Kultur Jaringan PKT Kebun Raya–LIPI dan mahasiswa magang dari UGM, POLINELA, UNILA dan IPB yang telah membantu teknis pelaksanaan kegiatan penelitian ini. Kami juga mengucapkan banyak terimakasih kepada Dr. Graham Eagleton (Australian Volunteer International) atas kesediaannya dalam memberi masukan untuk perbaikan naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bharati, S.K., D.C. Manobendra dan M.P. Behari 2013. *In vitro* propagation in Pteridophytes: A Review. *International Journal of Research of Ayurveda and Pharmacy* 4(2): 297–303.
- Chandra, S. 1970. Vascular organization of the rhizome of *Cibotium barometz*. *American Fern Journal* 60 (2): 68–72.
- Chen, S.M., H.P. Deng, G.H. Liu and M. Han. 2007. Gametophyte development and its diversity in *Cibotium barometz*. *Xibei Zhiwu Xuebao* 27(3): 460–463.
- Christina, C., L. Fiori, M. Santos and A.M. Randi. 2009. Aspects of gametophyte development of *Dicksonia sellowiana* Hook (Dicksoniaceae): an endangered tree fern indigenous to South and Central America. *American Fern Journal* 99(3): 207–216.
- Goller K., and J.J. Rybczynsky. 2007. Gametophyte and Sporophyte of tree ferns *in vitro* culture. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 76(3): 193–199.
- Imaichi, R. 2013. A new classification of the gametophyte development of homosporous ferns, focusing on meristem behaviour. *Fern Gazette* 19: 141–156
- Marimuthu, J., and V.S. Manickam. 2011. *Ex situ* conservation of two threatened ferns of the Western Ghats through *in vitro* spore culture. *Journal of Threatened Taxa* 3(7): 1919–1928.
- Khan, S., M. Raziq, and H.A. Kayani. 2008. *In vitro* propagation of bird’s nest fern (*Asplenium nidus*) from spore. *Pakistan Journal of Botany* 40(1): 91–97
- Lemmens, R. H. M. J., P.C.M, Jansen, J.S. Siemonsma, and F.M. Stavast. 1989. *Plant resources of South-East Asia. Basic list of species and commodity grouping*. PROSEA Project, Wageningen, the Netherlands.
- Liao, Y.K., and Y.H. Wu. 2011. *In vitro* propagation of *Platyterium bifurcatum* (Cau) C. Chr via green globular body initiation. *Botanical studies* 53: 455–463.
- May, L.W. 1978. The economic uses and associated folklore of ferns and fern allies. *Botanical Review* 44(4): 491–528.
- Mazumder, P.B., B. Mazumder, M.D. Choudhury and G.D. Sharma. 2011. *In Vitro* Propagation of *Drynaria quercifolia* (L.) J. Sm., a Medicinal Fern. *Assam University Journal of Science & Technology* 7(1): 79–83.
- Nayar, B.K. dan S. Kaur. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. *Botanic Review* 37: 295–396.
- Nguyen, T., T.S. Le, D.P. Ngo, Q.N. Nguyen, T.H. Pham, and T.H. Nguyen. 2009. *Non-detriment finding for Cibotium barometz in Viet Nam*. SC58 Doc. 21.1. Annex 2.

- Oldfield, S. 1995. *Significant trade in CITES Appendix II plants. Tree ferns*. Prepared for the CITES Secretariat by the World Conservation Monitoring Centre, Cambridge, UK.
- Praptosuwiryo, T.Ng. 2003. *Cibotium barometz*. (L.) J. Smith. In W.P. de Winter and V.B. Amoroso (Eds.) *Cryptogams: Ferns and Ferns Allies*. Plant Resources of South-East Asia 15 (2): 79–82.
- Praptosuwiryo, T.Ng. 2010. Gametophytes of the bird nest ferns *Asplenium nidus* (Aspleniaceae) from West Kalimantan. *Buletin Kebun Raya* 13(1): 1–7.
- Praptosuwiryo, T.Ng., D.O. Pribadi, D.M. Puspitaningtyas, and S. Hartini. 2011. Inventorying of the tree fern genus *Cibotium* of Sumatra: Ecology, population size and distribution in North Sumatra. *Journal Biodiversitas* 12(4): 204–211.
- Praptosuwiryo, T.Ng., D.O. Pribadi, and Rugayah. 2015. Growth, Development and Morphology of Gametophytes of Golden Chicken Fern (*Cibotium barometz*) in Natural Media. *Biodiversitas* 16(2): 303–310.
- Puri, H. S. 1970. Indian Pteridophytes used in folk remedies. *American Fern Journal* 60(4): 137–143.
- Rogers, S.M.D., and S. Banistar. 1992. Micropropagation of *Notholaena* “Sun-Tuff Fern”. *Hortscience* 27(11):1224–1225
- Rugayah, T.Ng. Praptosuwiryo, D.M. Puspitaningtyas. 2009. Morphological Variation of *Cibotium barometz* from West Sumatra. Proceedings on The International Conference on Biological Science. Faculty of Biology, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 329 – 401pp.
- Sara, C.T., and V.S. Manickam. 2007. *In vitro* development ontogeny and life cycle of rare fern species -*Thelypteris confluens* (Thunb.) Morton. *Indian Journal of Biotechnology* 6: 372–380.
- Van Steenis, C.G.G.J and R.E. Holtum. 1982. Flora Malesiana Seies II, Ferns and Ferns Allies.
- Zhang, X.C., J.S. Jia and G.M. Zhang. 2008. Non-detriment finding for *Cibotium barometz* in China. NDF Workshop Case Studies. WG 2 – Perennials. Case Study 1: *Cibotium barometz*. Pp. 1–8.