

Pengaruh Pupuk Nitrogen Terhadap Kerapatan Kristal Kalsium Oksalat pada Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume)

Bina Rizky Amalia^{1)*}, Nunung Harijati²⁾, Retno Mastuti²⁾

¹⁾ Program Studi Sarjana Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang

²⁾ Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang

Diterima 06 Maret 2014, direvisi 01 April 2014

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pupuk nitrogen terhadap bentuk dan kerapatan kristal kalsium oksalat pada umbi porang. Bulbil yang berasal dari tanaman porang periode tumbuh pertama disemaikan hingga daun membuka penuh. Tanaman hasil semai dengan tinggi sekitar 50 cm dipindahkan ke dalam polibeg. Setelah beradaptasi selama tiga minggu, tanaman diberi perlakuan pupuk nitrogen (urea) dengan dosis 0, 1, dan 5 g/polibeg. Tanaman dipelihara hingga akhir periode tumbuh. Preparat dibuat dengan mengiris umbi setipis mungkin menggunakan mikrotom geser. Irisan umbi porang dijernihkan menggunakan metode *clearing* yang telah dimodifikasi. Preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya untuk menghitung kerapatan kristal kalsium oksalat. Data kerapatan kristal kalsium oksalat dianalisis dengan ANOVA ($\alpha = 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa umbi porang memiliki empat jenis kristal, yaitu rafida, *druse*, *stiloid*, dan prisma. Pemupukan nitrogen tidak berpengaruh terhadap kerapatan kristal kalsium oksalat.

Kata kunci : Kristal kalsium oksalat, porang, pupuk nitrogen, umbi.

ABSTRACT

The aim of this research was to know the effects of nitrogen fertilizer to the shape and density of calcium oxalate (CaOx) crystals in porang tuber. Bulbil derived from porang plant in the first growth period seeded until the leaves fully open. Seedlings were transferred to a polybag after most of them has height 50 cm. After adapting for three weeks, the plants were treated with nitrogen fertilizer (urea) with a dose 0, 1, and 5 g/polybag. The plants were grown until the end of the growing period. The slides were prepared by slicing tuber as thin as possible using a sliding microtome. Sliced tuber of porang were cleared by using the modified clearing method. The slides were observed using light microscope to calculate the density of CaOx crystals. The densities of calcium oxalate crystals were analyzed using ANOVA ($\alpha = 0,05$). The results showed that porang tuber has four kind of crystals i.e. raphide, druse, stiloid, and prism. Nitrogen fertilization had no significant effect on the densities of calcium oxalate crystals.

Keywords : Calcium oxalate crystals, nitrogen fertilizer, porang, tuber.

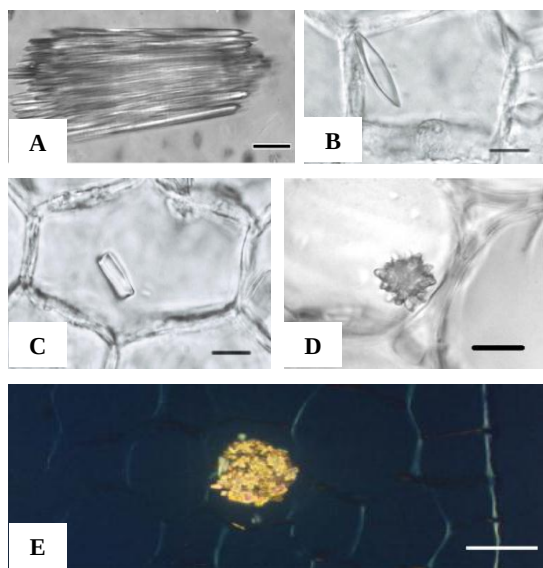
PENDAHULUAN

Indonesia memiliki berbagai jenis umbi-umbian yang berpotensi untuk dikembangkan. Salah satunya adalah porang (*Amorphophallus muelleri* Blume). Porang merupakan tanaman yang termasuk dalam familia Araceae. Tanaman ini dapat tumbuh maksimal apabila

ditumbuhkan pada daerah dengan ketinggian 100 hingga 600 m dpl [1]. Porang memiliki keunikan, yaitu kandungan glukomanan pada umbi porang sangat tinggi. Selain glukomanan, umbi porang juga mengandung kristal kalsium oksalat (CaOx). Kristal kalsium oksalat merupakan hasil sintesis endogen asam oksalat dan kalsium. Pembentukan kristal kalsium oksalat terjadi di dalam vakuola sel dari sel idioblas, tepatnya di *membrane intravacuolar chamber*. *Membrane intravacuolar chamber* ini bersifat elastis yang mengikuti pertumbuhan

*Corresponding author :
E-mail: biennamel@gmail.com

kristal sesuai dengan perkembangan sel [2]. Morfologi kristal kalsium oksalat pada tanaman secara umum dibedakan menjadi lima yaitu rafida, *stiloid*, prisma, *druse*, dan kristal pasir [3] (Gambar 1). Kristal kalsium oksalat memiliki beberapa peran pada tanaman, di antaranya sebagai mekanisme untuk mengontrol distribusi dan penyimpanan kalsium, baik dalam jumlah yang berlebih maupun kekurangan serta membantu pertahanan tumbuhan terhadap hewan herbivora [4,3].



Gambar 1. Morfologi kristal kalsium oksalat pada tanaman secara umum. (A) Kristal rafida ujung runcing pada *Amorphophallus konjac* (Bar = 20 µm) [5]; (B) Kristal bentuk *stiloid* pada mahkota bunga *Helianthus annuus* (Bar = 10 µm) [6]; (C) Kristal bentuk prisma pada mahkota bunga *Helianthus annuus* (Bar = 10 µm) [6]; (D) Kristal bentuk *druse* pada sel empulur batang *Inula graveolens* (Bar = 10 µm) [7]; (E) Kristal pasir pada *Dieffenbachia maculate* (Bar = 50 µm) [8]

Perbedaan kelimpahan kristal kalsium oksalat pada masing-masing tanaman dapat dipengaruhi oleh jenis tanaman, umur tanaman, dan faktor genetik tanaman. Faktor lingkungan seperti pemupukan, intensitas cahaya, dan ketersediaan unsur hara mineral juga dapat mempengaruhi kelimpahan kristal kalsium oksalat pada tanaman [9]. Salah satu unsur hara mineral yang penting dalam tanah dan sangat dibutuhkan oleh tanaman ialah nitrogen. Nitrogen merupakan unsur hara esensial yang merupakan komponen penyusun dari banyak senyawa esensial bagi tumbuhan, seperti asam

amino. Setiap molekul protein tersusun dari asam-asam amino dan setiap enzim adalah protein, maka nitrogen juga merupakan unsur penyusun protein dan enzim yang berperan dalam pembentukan kristal kalsium oksalat [10].

Penelitian pada tanaman *Lemna minor* yang ditumbuhkan pada medium cair dengan sumber nitrogen sebagai nutrisinya menunjukkan adanya peningkatan jumlah kristal idioblas [11]. Peningkatan jumlah kristal idioblas diduga disebabkan oleh peningkatan pertumbuhan dan laju metabolisme jaringan tanaman. Laju metabolisme tanaman dapat meningkatkan sintesis asam askorbat dan galaktosa yang merupakan prekursor pembentukan oksalat [12]. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pupuk nitrogen terhadap bentuk dan kerapatan kristal kalsium oksalat pada umbi porang.

METODE PENELITIAN

Penyemaian hingga perlakuan dengan pupuk nitrogen dilakukan mulai bulan Oktober 2012 hingga April 2013. Pembuatan dan pengamatan preparat umbi porang dilakukan pada bulan April hingga Juni 2013 di Laboratorium Biologi Dasar, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang.

Penyemaian dan Penanaman Porang.

Bulbil yang berasal dari periode tumbuh pertama disemaikan di kebun Jurusan Biologi. Bulbil diperoleh dari petani porang di Dusun Oro-Oro Waru, Desa Sumberbendo, Kecamatan Saradan, Kabupaten Madiun, Jawa Timur. Pemeliharaan tanaman dilakukan dengan penyiraman setiap dua hari sekali hingga daun membuka penuh. Tanaman porang hasil semaian dipilih yang memiliki tinggi hampir seragam yaitu ± 50 cm dari permukaan tanah. Tanaman porang kemudian dipindahkan ke dalam polibeg berukuran $40 \times 40 \times 20$ cm³ yang berisi campuran tanah dan humus (1:1) seberat 7 kg.

Perlakuan Pupuk Nitrogen. Tanaman porang diberi perlakuan pupuk urea sebagai sumber nitrogen dengan dosis pupuk 0 (kontrol), 1, dan 5 g/polibeg setelah beradaptasi

selama tiga minggu di dalam polibeg. Pada setiap dosis perlakuan nitrogen terdapat tiga tanaman sebagai ulangan. Tanaman porang dipelihara hingga akhir periode tumbuh.

Pembuatan Preparat Semi Permanen Umbi Porang. Pembuatan preparat diawali dengan mencuplik umbi menggunakan *corkborer* dari bagian samping umbi porang. Kemudian potongan umbi yang berbentuk silinder diiris setipis mungkin menggunakan mikrotom geser. Selanjutnya dilakukan *clearing* dengan modifikasi metode Ilarslan [4] yaitu irisan sampel direndam dalam NaOH 5% selama 24 jam (*overnight*) pada suhu 37 °C. Kemudian irisan direndam dalam pemutih komersial (Na-hipoklorit) 50% selama 1 jam lalu dicuci menggunakan air mengalir sebanyak tiga kali. Selanjutnya sampel didehidrasi menggunakan etanol berseri yaitu 30%, 50%, 70%, dan 80%, masing-masing selama 10 menit dan terakhir direndam pada etanol absolut 100% selama 5 menit. Selanjutnya sampel diletakkan pada gelas objek yang telah ditetesi larutan *Hoyer* kemudian ditutup dengan gelas penutup.

Pengamatan Preparat Mikroskopis. Preparat irisan umbi porang diamati menggunakan mikroskop cahaya (binokuler) Olympus CX 31 pada perbesaran 100× dan 1000×. Kerapatan kristal kalsium oksalat dihitung dari tiga preparat irisan umbi porang sebagai ulangan teknis penelitian dan masing-masing preparat irisan diamati pada tiga bidang pandang. Kerapatan kristal CaOx dinyatakan dalam satuan kristal/mm². Kerapatan total kristal CaOx dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

Kerapatan total CaOx per Irisan

$$(I_{1-n}) = \frac{(\text{Jumlah kristal}_1 + \dots + \text{Jumlah kristal}_n) / n}{\text{Luas bidang pandang (mm}^2\text{)}} \quad (1)$$

n = jumlah bidang pandang

Kerapatan total CaOx per Ulangan

$$(U_{1-n}) = (I_1 + I_2 + \dots + I_n) / n \quad (2)$$

n = jumlah irisan yang dibuat per ulangan

Kerapatan total CaOx per Umbi

$$(U_1 + U_2 + \dots + U_n) / n \quad (3)$$

n = jumlah ulangan

Kerapatan masing-masing bentuk kristal kalsium oksalat dihitung menggunakan rumus yang sama. Dokumentasi keragaman bentuk kristal kalsium oksalat dilakukan menggunakan kamera digital yang terintegrasi dengan mikroskop binokuler Olympus BX 53 pada perbesaran 200×.

Analisis Data. Data kerapatan kristal kalsium oksalat dianalisis menggunakan uji *Anova* ($\alpha = 0,05$) dengan program *SPSS Statistics* 17.0.

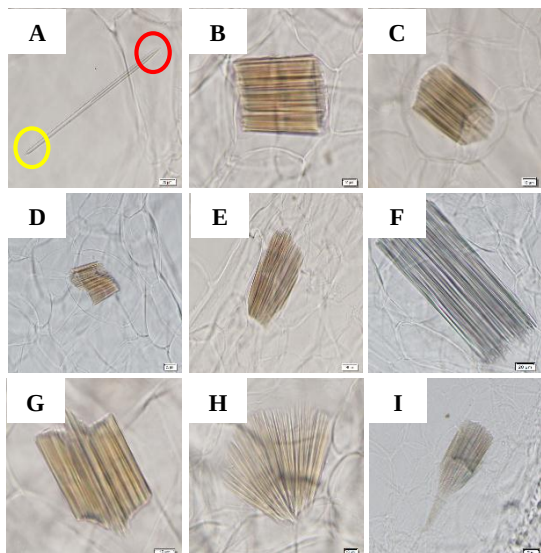
HASIL DAN PEMBAHASAN

Bentuk-bentuk dan Jenis Kristal Kalsium Oksalat. Bentuk kristal kalsium oksalat yang ditemukan pada penelitian ini yaitu kristal rafida (berkas dan tunggal), kristal *druse*, kristal *stiloid*, dan kristal prisma. Kristal rafida dan kristal *druse* merupakan dua bentuk kristal yang banyak ditemukan pada famili *Araceae* meskipun tidak menutup kemungkinan dapat ditemukan bentuk kristal yang lain [5].

Kristal rafida umumnya ditemukan tunggal dan dalam bentuk berkas pada jaringan tanaman. Ukuran kristal rafida tunggal yang ditemukan berkisar antara 30 hingga 270 µm. Kristal rafida tunggal yang ditemukan dalam penelitian ini memiliki ujung runcing dengan garis tengah pada kristal (Gambar 2A, lingkaran merah) dan ujung lainnya berbentuk seperti kait (Gambar 2A, lingkaran kuning). Selain rafida tunggal, jenis kristal rafida lain yang ditemukan ialah rafida berkas. Kristal rafida berkas yang ditemukan pada umbi porang yang diamati memiliki ukuran antara 30 hingga 280 µm. Kristal rafida berkas terdapat dalam dua jenis yaitu rafida berkas dengan susunan rapi (kompak) dan rafida berkas dengan susunan tidak rapi.

Rafida kompak yang ditemukan memiliki susunan yang unik dan berwarna coklat seperti rafida kompak dalam susunan menyerupai balok (Gambar 2B), menyerupai tabung (Gambar 2C), menyerupai selembar kertas (Gambar 2D), dan susunan kristal saling tusuk (Gambar 2E) serta rafida kompak berwarna hitam yang hanya ditemukan dalam satu struktur yang tersusun rapi (Gambar 2F). Kristal rafida yang terorganisasi tidak rapi juga ditemukan dalam berbagai susunan yang unik

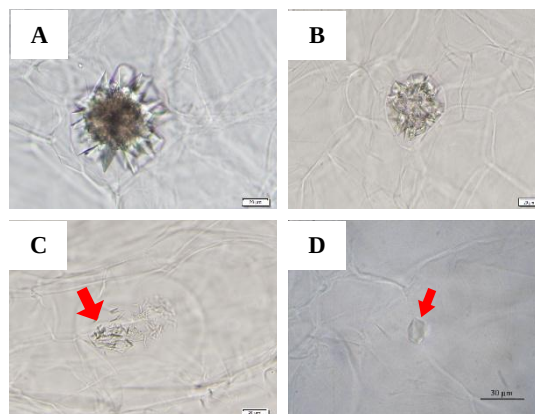
seperti kristal dengan susunan menyerupai buku terbuka (Gambar 2G), menyerupai kipas (Gambar 2H), dan menyerupai sapu (Gambar 2I).



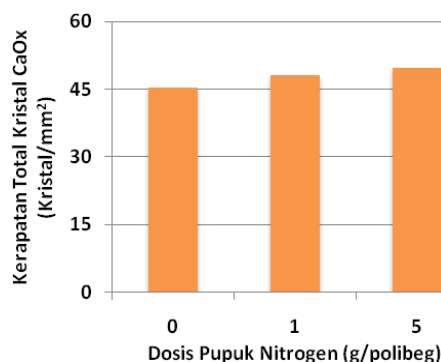
Gambar 2. Variasi morfologi kristal rafida yang ditemukan pada umbi porang. (A) Kristal rafida tunggal (Bar = 20 µm); (B) Kristal rafida kompak bentuk balok (Bar = 10 µm); (C) Kristal rafida kompak bentuk tabung (Bar = 10 µm); (D) Kristal rafida kompak seperti selembar kertas (Bar = 20 µm); (E) Kristal rafida saling tusuk (Bar = 20 µm); (F) Kristal rafida kompak warna hitam (Bar = 20 µm); (G) Kristal rafida seperti buku terbuka (Bar = 10 µm); (H) Kristal rafida seperti kipas (Bar = 10 µm); (I) Kristal rafida seperti sapu (Bar = 20 µm)

Kristal *druse* merupakan kristal yang berasal dari gabungan kristal *multifacet*. Jenis kristal *druse* yang ditemukan pada penelitian ini hanya dua, yaitu *druse* solid (Gambar 3A) dan *druse* tidak solid (Gambar 3B). Ukuran kristal *druse* yang ditemukan berkisar antara 25 hingga 95 µm.

Bentuk kristal kalsium oksalat lain yang ditemukan dalam penelitian ini ialah kristal berbentuk *stiloid* yang merupakan kristal berbentuk jarum, tetapi strukturnya sedikit tumpul dengan ukuran berkisar antara 4 hingga 13 µm (Gambar 3C) dan kristal bentuk prisma yang ditemukan pada penelitian ini berwarna putih transparan, berbentuk segi enam, dan tersusun tunggal dengan ukuran sekitar 5 hingga 13 µm (Gambar 3D). Kristal *stiloid* dan prisma umumnya berukuran sangat kecil, sehingga secara mikroskopis hanya dapat dilihat dengan jelas pada perbesaran 1000×.



Gambar 3. Bentuk kristal lain yang ditemukan pada umbi porang. (A) Kristal *druse* solid (Bar = 20 µm); (B) Kristal *druse* tidak solid (Bar = 20 µm); (C) Kristal *stiloid* (tanda panah, Bar = 20 µm); (D) Kristal prisma (tanda panah, Bar = 30 µm)



Gambar 4. Pengaruh dosis pupuk nitrogen terhadap kerapatan total kristal CaOx pada umbi porang (n = 3)

Pengaruh Dosis Pupuk Nitrogen terhadap Kerapatan Kristal Kalsium Oksalat pada Umbi Porang. Pemberian pupuk nitrogen (urea) pada tanaman porang tidak berpengaruh nyata terhadap kerapatan total kristal kalsium oksalat. Gambar 4 menunjukkan kerapatan total kristal kalsium oksalat pada pemberian pupuk 5 g/polibeg (50 ± 10 kristal/mm²) cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan kerapatan total kristal CaOx pada kontrol (0 g/polibeg) sebanyak 45 ± 7 kristal/mm² dan 1 g/polibeg sebanyak 48 ± 4 kristal/mm². Kerapatan total kristal CaOx pada umbi baik tanaman kontrol dan perlakuan dua dosis pupuk yang diberikan diduga juga dipengaruhi faktor lain dalam pembentukan kristal CaOx pada umbi porang seperti fisiologi umbi porang, regulasi genetik tanaman, dan kondisi lingkungan lain meskipun nitrogen berperan dalam pembentukan protein yang

dibutuhkan dalam pembentukan kristal kalsium oksalat.

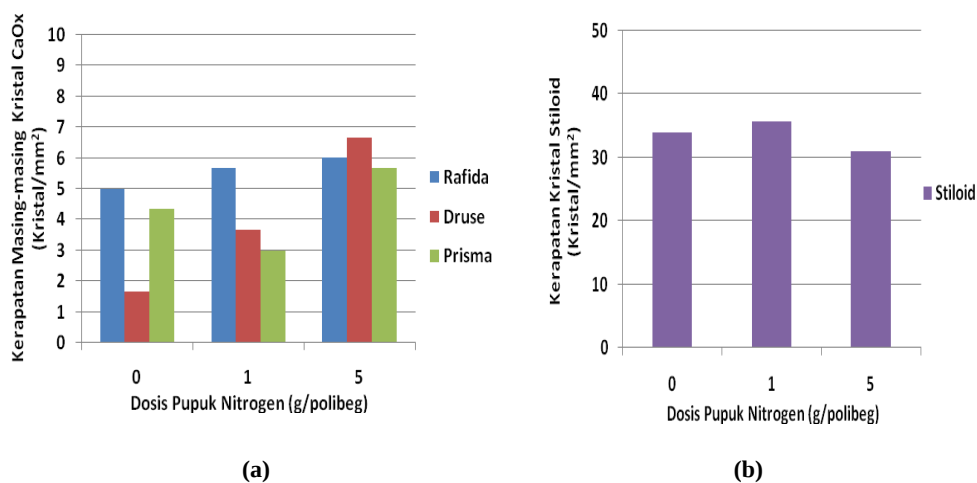
Faktor fisiologi yang dapat mempengaruhi pembentukan kristal kalsium oksalat ialah regulasi Ca pada tanaman yang terkait dengan metabolisme tanaman, sedangkan faktor lingkungan yang mempengaruhi pembentukan kristal kalsium oksalat ialah suhu, curah hujan, pH tanah, dan ketersediaan kalsium dalam tanah [3; 13]. Faktor genetik juga dapat mendukung dalam peningkatan pembentukan kristal CaOx [3].

Pengaruh pupuk nitrogen diamati pula pada kerapatan masing-masing bentuk kristal kalsium oksalat. Berdasarkan hasil analisis ragam, kerapatan masing-masing kristal CaOx pada kontrol dan dua dosis pupuk nitrogen yang diberikan tidak berbeda signifikan. Kerapatan kristal rafida pada kontrol sebanyak 5 ± 1 kristal/mm² cenderung lebih rendah dibandingkan dengan kerapatan

kristal rafida pada dosis 1 g/polibeg (6 ± 2 kristal/mm²) dan 5 g/polibeg (6 ± 1 kristal/mm²) (Gambar 5A). Kerapatan kristal *druse* pada kontrol (2 ± 1 kristal/mm²) cenderung lebih

rendah dibandingkan dengan kerapatan kristal *druse* pada dosis 1 g/polibeg (4 ± 1 kristal/mm²) dan 5 g/polibeg (7 ± 3 kristal/mm²) (Gambar 5A).

Secara umum, kerapatan kristal stiloid mencapai 36 ± 4 kristal/mm² (Gambar 5B) yang cenderung lebih tinggi daripada kerapatan tiga jenis kristal lainnya (Gambar 5A). Kerapatan kristal prisma pada dosis pupuk 1 g/polibeg (3 ± 3 kristal/mm²) cenderung lebih rendah dibandingkan dengan kontrol (4 ± 4 kristal/mm²) kemudian cenderung tinggi pada dosis pupuk 5 g/polibeg (6 ± 4 kristal/mm²) (Gambar 5A). Berbeda dengan kristal prisma, kerapatan kristal *stiloid* yang semula cenderung meningkat pada dosis pupuk 1 g/polibeg (36 ± 4 kristal/mm²) dibandingkan dengan kontrol (34 ± 8 kristal/mm²) kemudian kerapatannya cenderung rendah pada dosis pupuk 5 g/polibeg (31 ± 8 kristal/mm²) (Gambar 5B). Berdasarkan hasil tersebut, pemupukan nitrogen (urea) pada tanaman porang dapat direkomendasikan kepada petani porang karena pemupukan nitrogen tidak memberikan hasil yang berbeda terhadap jumlah kristal kalsium oksalat.



Gambar 5. Pengaruh dosis pupuk nitrogen terhadap kerapatan masing-masing bentuk kristal CaOx pada umbi porang. (a) Kerapatan kristal rafida, *druse*, dan prisma; (b) Kerapatan kristal *stiloid*. (n = 3)

KESIMPULAN

Pemberian pupuk nitrogen (urea) tidak berpengaruh nyata terhadap kerapatan kristal kalsium oksalat. Berdasarkan hasil tersebut, pemupukan nitrogen (urea) pada porang dapat direkomendasikan kepada petani porang karena pemupukan nitrogen pada porang tidak berpengaruh terhadap jumlah kristal kalsium oksalat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Paidi, petani porang di Dusun Oro-Oro Waru, Desa Sumberbendo, Kecamatan Saradan, Kabupaten Madiun, Jawa Timur atas pemberian bahan tanam (bulbil) yang digunakan dalam penelitian ini serta Bapak Sumarwoto yang telah memberikan informasi mengenai pemupukan nitrogen pada porang.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sumarwoto (2005). Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume); Deskripsi dan sifat-sifat lainnya, *Biodiversitas*, **6**(3), 185-190.
- [2] Webb, M.A. (1999), Cell-mediated crystallization of calcium oxalate in plants, *Plant Cell*, **11**, 751-761.
- [3] Franceschi, V.R. & P.A. Nakata (2005), Calcium oxalate in plants: Formation and function, *Ann. Rev. Plant Biol.*, **56**, 41-71.
- [4] Ilarslan, H., R.G. Palmer, & H.T. Horner (2001), Calcium oxalate crystals in developing seeds of soybean, *Ann. Bot.*, **88**, 243-257.
- [5] Prychid, C.J., R.S. Jabaily, & P.J. Rudall (2008), Cellular ultrastructure and crystal development in *Amorphophallus* (Araceae), *Ann. Bot.*, **101**, 983-995.
- [6] Meric, C. & F. Dane (2004), Calcium oxalate crystals in floral organs of *Helianthus annuus* L. and *H. tuberosus* L. (Asteraceae), *Biol. Szeg. Acta.*, **48**, 19-23.
- [7] Meric, C. (2009), Calcium oxalate crystals in some species of the tribe Inuleae (Asteraceae), *Biol. Crac. Acta.*, **51**(1), 105-110.
- [8] Cao, H. (2003), *The distribution of calcium oxalate crystals in genus Dieffenbachia Schott. and the relationship between environmental factors and crystal quantity and quality*. Thesis. University of Florida. p:58
- [9] Indriyani, S., E. Arisoesilaningsih, T. Wardiyati, & H. Purnobasuki (2011), A model of relationship between climate and soil factors related to oxalate content in porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) corm, *Biodiversitas*, **12**(1), 45-51.
- [10] Lakitan, B. (2004), *Dasar-dasar fisiologi tumbuhan*, Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- [11] Franceschi, V.R. (1987), Oxalic acid metabolism and calcium oxalate formation in *Lemna minor* L., *Plant Cell Environ.*, **10**, 397-406.
- [12] Keates S.E., N.M. Tarlyn, F.A. Loewus, & V.R. Franceschi (2000), L-ascorbic acid and L-galactose are sources for oxalic acid and calcium oxalate in *Pistia stratiotes*, *Phytochem*, **53**(4), 433-440.
- [13] Indriyani, S., E. Arisoesilaningsih, T. Wardiyati, & H. Purnobasuki (2010), Hubungan faktor lingkungan habitat porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) pada lima agroforestri di Jawa Timur dengan kandungan oksalat umbi. Jurnal dipresentasikan dalam 7th Basic Science National Seminar Proceeding di Universitas Brawijaya, Malang, 20 Februari 2010.