

Kesan Keadaan Tinggi Karbon Dioksida dan Kandungan Nutrien Media terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Nutrien *Wolffia arrhiza*

(Effect of High Carbon Dioxide and Medium Nutrient Content on the Growth and Nutrient Content of *Wolffia arrhiza*)

FARHANNAH AZHAR¹, BABUL AIRIANAH OTHMAN¹ & MOHAMAD YUSOF MASKAT^{1,2,*}

¹Jabatan Sains Makanan, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

²Pusat Inovasi Teknologi Konfeksi, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

Diserahkan: 6 Februari 2024/Diterima: 30 Ogos 2024

ABSTRAK

Karbon dioksida (CO₂) merupakan antara bahan utama yang diperlukan oleh tumbuhan untuk pertumbuhan. Keadaan tinggi CO₂ serta nutrien penanaman dapat meningkatkan pertumbuhan hasil tanaman serta memberi kesan terhadap nutrien tumbuhan. Justeru, kajian ini dijalankan untuk menentukan kesan keadaan tinggi CO₂ dan nutrien media penanaman (kalium nitrat (KNO₃), magnesium sulfat heptahidrat (MgSO₄·7H₂O), kalsium nitrat tetrahidrat (Ca(NO₃)₂·4H₂O) dan monokalium fosfat (KH₂PO₄)) terhadap pertumbuhan dan kandungan nutrien *Wolffia arrhiza*. *Wolffia arrhiza* telah ditanam di dalam tahap CO₂ normal (500 ppm) dan tahap CO₂ tinggi (800 ppm) serta 5 kepekatan nutrien media penanaman yang berbeza iaitu N-media (kawalan), 3 kali kepekatan yang lebih rendah (A), 3 kali kepekatan yang lebih tinggi (B), 5 kali kepekatan yang lebih tinggi (C) dan 7 kali kepekatan yang lebih tinggi (D) berbanding N-media. Keputusan kajian menunjukkan keadaan tinggi CO₂ meningkatkan pertumbuhan *Wolffia arrhiza* dengan signifikan (p<0.05) dengan peratus pertumbuhan yang lebih tinggi diperolehi berbanding sampel yang tidak ditanam dalam keadaan tinggi CO₂. Perbandingan antara komposisi media yang berbeza menunjukkan tiada perbezaan signifikan bagi kadar pertumbuhan untuk sampel yang ditanam sama ada pada keadaan CO₂ normal atau tinggi CO₂. Terdapat peningkatan kandungan karbohidrat (p<0.05) *Wolffia arrhiza* dengan peningkatan tahap CO₂ tetapi hanya pada media pertumbuhan dengan kepekatan nutrien yang tinggi (masing-masing 61.4, 64.8 dan 64.3% bagi media B, C dan D). Tiada kesan signifikan oleh tahap CO₂ dan kandungan nutrien untuk kandungan protein dan nilai DPPH. Walau pun kajian ini menunjukkan terdapat kesan positif oleh tahap CO₂ yang lebih tinggi, lebih banyak kajian perlu dijalankan untuk lebih memahami perubahan yang berlaku secara fisiologi bagi *Wolffia arrhiza* hasil daripada penanaman pada CO₂ yang tinggi supaya dapat meningkatkan hasil.

Kata kunci: Karbohidrat; karbon dioksida; nutrien media; pertumbuhan; *Wolffia arrhiza*

ABSTRACT

Carbon dioxide (CO₂) is one of the main substances that plants need for growth. Conditions of high concentration of CO₂ and cultivation nutrient can increase crop growth and affect plant nutrients. Thus, this study was carried out to determine the effect of high CO₂ and nutrient concentration (potassium nitrate (KNO₃), magnesium sulphate heptahydrate (MgSO₄·7H₂O), calcium nitrate tetrahydrate (Ca(NO₃)₂·4H₂O) and monopotassium phosphate (KH₂PO₄)) on the growth and nutrient content of *Wolffia arrhiza*. *Wolffia arrhiza* was grown in normal CO₂ levels (500 ppm) and high CO₂ levels (800 ppm) with 5 different nutrient concentrations of the cultivation media which were N-media (control), 3 times lower concentration (A), 3 times higher concentration (B), 5 times higher concentration (C) and 7 times higher concentration (D) compared to N-media. Results of the study showed high CO₂ conditions significantly (p<0.05) increased *Wolffia arrhiza* growth where higher growth percentage was attained compared to samples not grown in high CO₂ conditions. Comparison between different media compositions showed no significant difference in growth rate for samples grown in either normal or high CO₂ conditions. There was an increase in carbohydrate content (p<0.05) of *Wolffia arrhiza* with the increase of CO₂ but only in growth media with high nutrient content (61.4, 64.8 dan 64.3% for media B, C, and D, respectively). No significant effect of CO₂ level and nutrient content on protein content and DPPH value. Even though this study showed the positive effects of high levels of CO₂, more studies are needed to further understand the physiological changes of *Wolffia arrhiza* as affected by high CO₂ to increase yield.

Keywords: Carbohydrate; carbon dioxide; growth; nutrient content; *Wolffia arrhiza*

PENGENALAN

Peningkatan kepekatan CO₂ di dalam atmosfera hasil buangan daripada proses antropogen menjadi kebimbangan kerana ia merupakan salah satu faktor pemanasan global. Dalam tempoh setengah abad ini, telah berlaku peningkatan pada tahap pembebasan CO₂ dunia iaitu daripada 320 ppm pada tahun 1960 kepada 412 ppm pada tahun 2019 (Bhatia et al. 2021). Strategi untuk mengaplikasikan penggunaan CO₂ dalam penanaman merupakan salah satu kaedah yang dapat meningkatkan penggunaan CO₂. CO₂ merupakan bahan asas penting dalam proses pertumbuhan tanaman iaitu proses fotosintesis. Secara dasarnya, peningkatan kepekatan CO₂ berupaya untuk merangsang proses fotosintesis seterusnya meningkatkan kadar pertumbuhan tanaman, namun, kesan keadaan tinggi CO₂ terhadap nutrien tumbuhan bergantung kepada unsur tertentu seperti kumpulan fungsi tumbuhan, organ tumbuhan, ketersediaan nitrogen dan di dalam beberapa kes, tahap kepekatan CO₂ (Duval & Blankinship 2012).

Tumbuhan mampu untuk menyesuaikan diri dengan peningkatan tahap kepekatan CO₂ melalui asimilasi karbon dalam proses fotosintesis yang membawa kepada peningkatan pertumbuhan dan produktiviti tanaman (Kant et al. 2012). Walau bagaimanapun, potensi spesies tumbuhan yang berbeza untuk berasimilasi dan kesan terhadap penanaman dalam keadaan tinggi CO₂ masih tidak difahami sepenuhnya. Melalui kajian lepas, dilaporkan bahawa hasil produktiviti meningkat untuk spesies tumbuhan seperti keladi dan beras (Thin et al. 2017), timun dengan peningkatan hasil sebanyak 19% (Dong et al. 2018a), serta salad dan lobak masing-masing sebanyak 18% dan 19% (Dong et al. 2018b). Namun, keadaan tinggi CO₂ pula dilaporkan memberi kesan negatif terhadap pertumbuhan kentang (Lee et al. 2020). *Lemna minor* iaitu satu lagi jenis tumbuhan atas air tidak menunjukkan perbezaan yang signifikan bagi kandungan protein apabila terdapat peningkatan CO₂ pada kedua-dua keadaan rendah dan tinggi nutrien (Zenir et al. 2023). Oleh itu, meskipun tahap kepekatan CO₂ yang tinggi dapat merangsang proses fotosintesis untuk pertumbuhan tanaman, namun faktor seperti spesies tumbuhan memainkan peranan penting.

Pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan juga bergantung kepada ketersediaan nutrien. Tumbuhan memerlukan unsur penting seperti nitrogen, kalium, fosforus, kalsium dan magnesium untuk memastikan kesihatan tumbuhan. Sebagai contoh, nitrogen memainkan peranan penting dalam sistem metabolisme tumbuhan dan penting dalam pertumbuhan kerana fungsinya yang boleh meningkatkan hasil tanaman (Lenghari et al. 2016). Nitrogen bukan sahaja meningkatkan hasil tanaman tetapi juga boleh meningkatkan kualiti makanan kerana nitrogen juga berfungsi dalam pembinaan asid amino dan klorofil, namun, tahap kepekatan yang berbeza akan mempengaruhi proses fotosintesis dan pengambilan mineral tumbuhan yang akan menjejaskan pertumbuhan dan perkembangan nutrien tumbuhan (Wang et al. 2020).

Wolffia arrhiza merupakan salah satu spesies dalam keluarga *Lemnaceae* iaitu tumbuhan air (*duckweed*) yang merupakan angiosperma terkecil di dunia yang cepat membiak di samping memberi kesan yang rendah terhadap persekitaran dari segi ruang, masa dan kos (Lam 2015). *Wolffia arrhiza* telah digunakan dalam banyak kajian termasuklah kajian makanan haiwan (Sein, Sein & Aye 2020), makanan manusia (Appenroth et al. 2017; Siripahanakul et al. 2013), rawatan sisa air (Kotowska et al. 2018; Suppadit et al. 2008) serta kajian tenaga biologi (Romanowska-Duda & Pszczolkowski 2013). Di beberapa negara Asia, *Wolffia arrhiza* berfungsi sebagai makanan manusia seperti di Burma, Laos dan Thailand (Tipnee, Jutiviboonsuk & Wongtrakul 2017). Antara spesies *Wolffia* dominan yang digunakan dalam pemakanan manusia ialah *Wolffia arrhiza* (Beukelaar et al. 2019). Dari segi nutrisi, *Wolffia arrhiza* mempunyai kandungan protein antara 20-30%, kanji 10-20%, lemak 1-5% dan serat 25% (Sirirustananun & Jongput 2021). *Wolffia arrhiza* juga mengandungi kandungan asid amino penting hampir kepada nilai yang diperlukan oleh kanak-kanak prasekolah mengikut piawaian Pertubuhan Kesihatan Sedunia (Appenroth et al. 2018). Ciri ini menjadikan *Wolffia arrhiza* sebagai sumber nutrisi yang baik untuk pemakanan manusia.

Meskipun *Wolffia arrhiza* berpotensi tinggi untuk dijadikan sumber makanan manusia, masih kurang kajian mengenai potensi penggunaan CO₂ bagi meningkatkan penghasilan *Wolffia arrhiza* ini. Tambahan lagi, kesan keadaan tinggi CO₂ terhadap ciri *Wolffia arrhiza* yang terhasil juga belum jelas. Justeru, objektif kajian ini adalah untuk menentukan kesan terhadap pertumbuhan dan nutrien *Wolffia arrhiza* apabila ditanam dalam kepekatan tinggi CO₂ serta di dalam kandungan nutrien yang berbeza di dalam media.

BAHAN DAN KAEDAH

Spesies *Wolffia arrhiza* yang dipilih sebagai bahan kajian diperoleh daripada Benar Aquaculture Enterprise, Baling, Kedah. Sampel *Wolffia arrhiza* (± 20 g) yang telah ditimbang berat basah terlebih dahulu dimasukkan ke dalam balang kaca 450 mL bersama 250 mL media pertumbuhan yang berbeza (Jadual 1) yang telah diubah suai mengikut skala kepekatan nutrien yang dikaji. Semua balang kaca yang mengandungi sampel dimasukkan ke dalam dua bekas plastik (55 (P) \times 38 (L) \times 33 (T) cm). Satu bekas plastik disalurkan gas CO₂ sehingga mencapai 800 ppm yang dipantau dengan menggunakan alat sensor CO₂ (Smart Air Detector, VSON Technology Co. Ltd.) dan seterusnya saluran ditutup tanpa penambahan gas CO₂ sehingga akhir tempoh penanaman. Satu lagi bekas plastik tanpa penambahan CO₂ (tahap gas CO₂ di sekitar 500 ppm). Posisi sampel di dalam bekas ditentukan secara rawak. Sampel *Wolffia arrhiza* ditanam untuk tempoh 7 hari dan pencahayaan dengan lampu LED diberi sepanjang 24 jam.

JADUAL 1. Formulasi 5 komposisi media pertumbuhan yang berbeza berasaskan N-media (Appenroth 2015)

	Berat (mg)				
	N-media (Kawalan)	A	B	C	D
KNO ₃	40.45	13.48	121.40	202.30	283.20
MgSO ₄ ·7H ₂ O	12.33	4.11	36.99	61.65	86.28
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	11.81	3.94	35.43	59.05	82.65
KH ₂ PO ₄	1.02	0.34	3.06	5.10	7.15
MnCl ₄ ·2H ₂ O	128.60	128.60	128.60	128.60	128.60
H ₃ BO ₃	15.45	15.45	15.45	15.45	15.45
Na ₂ MO ₄ ·2H ₂ O	2.35	2.35	2.35	2.35	2.35
FeNaEDTA	0.458	0.458	0.458	0.458	0.458
H ₂ O	250 mL	250 mL	250 mL	250 mL	250 mL

Media Kawalan : menurut N-media (Appenroth 2015)

Media A : 3 kali kepekatan nutrien yang lebih rendah berbanding media kawalan

Media B : 3 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

Media C : 5 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

Media D : 7 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

PENYEDIAAN MEDIA

Media pertumbuhan telah diubah suai daripada N-media (Appenroth 2015). Pengubahsuaian media pertumbuhan (A, B, C dan D) dibuat mengikut komposisi medium yang dikaji seperti yang dinyatakan dalam Jadual 1. Media kawalan adalah mengikut N-media (Appenroth 2015), manakala media A, B, C dan D mengandungi kepekatan nutrien kalium nitrat (KNO₃), magnesium sulfat heptahidrat (MgSO₄·7H₂O), kalsium nitrat tetrahidrat (Ca(NO₃)₂·4H₂O) dan monokalium fosfat (KH₂PO₄) yang, masing-masing adalah 3 kali kepekatan yang lebih rendah, 3 kali kepekatan yang lebih tinggi, 5 kali kepekatan yang lebih tinggi dan 7 kali kepekatan yang lebih tinggi berbanding media kawalan. Pengubahsuaian media hanya dilakukan terhadap bahan kimia KNO₃, MgSO₄·7H₂O, Ca(NO₃)₂·4H₂O dan KH₂PO₄ (Devlamnyck et al. 2020).

PERATUS PERTUMBUHAN *Wolffia arrhiza*

Berat basah sampel telah diambil selepas 7 hari. Sampel ditapis, dibilas dengan air paip dan dilap menggunakan tisu untuk membuang air berlebihan. Peratus pertumbuhan *Wolffia arrhiza* diperoleh mengikut perbandingan berat sebelum dan selepas 7 hari tempoh tanaman.

$$\text{Pertumbuhan (\%)} = \frac{\text{Berat basah baru (g)} - \text{berat basah asal (g)}}{\text{berat basah asal (g)}} \times 100$$

KANDUNGAN LEMBAPAN

Berat kering sampel diperoleh dengan proses pengeringan sampel menggunakan ketuhar (INB500, Memmert, Germany) pada suhu 105 °C selama 24 jam (AOAC 2016). Kandungan lembapan sampel ditentukan dengan pengiraan perbandingan berat basah dan berat kering.

$$\text{Kandungan lembapan \%} = \frac{\text{Berat basah (g)} - \text{berat kering (g)}}{\text{berat basah (g)}} \times 100$$

KANDUNGAN PROTEIN

Kandungan protein sampel basah diperoleh dengan menggunakan kaedah Kjeldhal (AOAC 2016). Nilai telah dihitung untuk mendapatkan peratus protein untuk asas kering menggunakan faktor pertukaran 6.25.

$$\text{Kandungan protein (\% d.b.)} = \frac{\text{Protein (asas basah)}}{100 - \text{kandungan air}} \times 100$$

KANDUNGAN KARBOHIDRAT

Kandungan karbohidrat ditentukan dengan kaedah fenol-sulfurik (Kadir et al. 2020). Sebanyak 0.5 g serbuk sampel kering *Wolffia arrhiza* dimasukkan ke dalam tiub 2.5 mL untuk menjalani proses penyingkiran klorofil sebelum pengekstrakan karbohidrat. Tiub yang mengandungi sampel dimasukkan 1 mL etanol 80% dan dipanaskan pada suhu 80 °C selama 15 minit. Sampel kemudiannya diempar selama 5 minit pada 1500 × g. Baki supernatan dipindahkan ke tabung uji lain pada suhu bilik dan langkah ini diulangi

sebanyak 12 kali untuk mengekstrak sebanyak mungkin karbohidrat yang ada di dalam sampel. Supernatan untuk setiap langkah pengekstrakan dikumpulkan untuk analisis karbohidrat.

Setelah larutan ekstrak karbohidrat sampel diperoleh, 200 µL larutan ekstrak dimasukkan ke dalam tiub mikro. Tiub mikro yang mengandungi larutan tersebut ditambah dengan 100 µL fenol 5% diikuti dengan 500 µL asid sulfurik pekat. Sampel kemudiannya digoncang menggunakan vortex selama 30 saat dan diinkubasi pada suhu bilik selama 20 minit. Pengukuran karbohidrat pada gelombang 490 nm (Shimadzu, Model UV-1800, Japan) dilakukan dan dibandingkan dengan lengkuk piawai glukosa.

UJIAN PENANGKAPAN RADIKAL (DPPH)

Analisis DPPH telah dilakukan mengikut kaedah ujian penghapusan radikal bebas 2,2-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (Hu et al. 2022). Untuk penyediaan larutan sampel, sampel kering *Wolffia arrhiza* dilarutkan dengan etanol 95% (1:30, w/v) pada suhu 50 °C selama 30 minit. Kemudiannya, larutan tersebut diempar selama 20 minit pada 5800 × g. Supernatan dikumpulkan untuk pengukuran DPPH.

Sebanyak 2.5 mL larutan supernatan sampel yang diperoleh dicampur dengan 1.0 mL larutan etanol DPPH (0.1 mM). Campuran tersebut dibiarkan bertindak balas dalam keadaan gelap dan pada suhu bilik selama 30 minit. Penyerapan dibaca pada 517 nm. Asid askorbik dan etanol digunakan sebagai piawai serta larutan kawalan. Nilai DPPH diperoleh dengan pengiraan seperti berikut:

$$\text{Nilai DPPH \%} = \frac{\text{Nilai penyerapan kawalan} - \text{Nilai penyerapan sampel}}{\text{Nilai penyerapan kawalan}} \times 100$$

ANALISIS STATISTIK

Semua uji kaji dijalankan sebanyak 3 replikasi. Data dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) serta Ujian Tukey menggunakan Minitab 21. Nilai-p dengan darjah keyakinan 95% telah digunakan.

HASIL DAN PERBINCANGAN

PERTUMBUHAN *Wolffia arrhiza*

Peratus pertumbuhan sampel boleh dilihat pada Jadual 2. Keputusan memperlihatkan bahawa keadaan tinggi CO₂ membantu meningkatkan pertumbuhan *Wolffia arrhiza* dengan signifikan (p<0.05) dengan peratus pertumbuhan yang lebih tinggi diperoleh berbanding sampel yang tidak ditanam dalam keadaan tinggi CO₂. Peningkatan kepekatan CO₂ yang merupakan bahan utama untuk proses fotosintesis berkemungkinan merangsang proses fotosintesis seterusnya meningkatkan kadar pertumbuhan tanaman. Ini dapat

dilihat dengan keputusan yang dihasilkan pada keadaan tinggi CO₂, peratus kadar pertumbuhan *Wolffia arrhiza* meningkat (p<0.05) berbanding yang ditanam dalam keadaan CO₂ normal dengan perbezaan antara 40% hingga 60% seperti daripada 90.13% ± 10.58 kepada 138.64% ± 15.68 untuk sampel *Wolffia arrhiza* yang ditanam dalam media dengan 7 kali kepekatan nutrien (media D). *Wolffia arrhiza* merupakan tumbuhan yang tidak mempunyai akar serta batang dan daunnya bercantum bersama dan dipanggil pelepah. *Wolffia arrhiza* membiak dengan pembiakan vegetatif melalui kaedah tunas dengan pelepah anak bertunas dari kantung tunggal pelepah asal. *Wolffia arrhiza* mempunyai stomata yang tidak tertutup dan dalam keadaan menghadap ke atas memberikannya kebolehan untuk pertukaran gas dengan atmosfera sekali gus dapat meningkatkan kadar fotosintesis dalam keadaan tinggi CO₂ (Mohedano, Costa & Filho 2016).

Perbandingan antara komposisi media yang berbeza menunjukkan tiada perbezaan signifikan bagi kadar pertumbuhan untuk sampel yang ditanam sama ada pada keadaan CO₂ normal (500 ppm) atau tinggi CO₂ (800 ppm) melainkan media A yang ditanam pada CO₂ tinggi. Hasil menunjukkan peningkatan CO₂ menghasilkan kesan peningkatan yang lebih signifikan (p<0.05) terhadap pertumbuhan *Wolffia arrhiza* berbanding peningkatan nutrien. Nitrogen yang merupakan komponen terbesar nutrien yang dimanipulasi di dalam kajian ini memainkan peranan yang penting dalam pertumbuhan untuk meningkatkan hasil tanaman, oleh yang demikian jumlah nitrogen yang betul adalah penting untuk pertumbuhan tanaman (Lenghari et al. 2016). Fosforus terlibat dalam metabolisme tenaga dan fotosintesis semasa pertumbuhan tumbuhan dan kalium memainkan peranan penting dalam metabolisme karbohidrat dan protein (Sun et al. 2022). Berdasarkan hasil kajian ini, peningkatan nutrien tidak menunjukkan kesan yang signifikan terhadap pertumbuhan *Wolffia arrhiza*. Ini menunjukkan bahawa komposisi media tanam yang digunakan dalam penyelidikan ini bukanlah faktor pembatas untuk pertumbuhan *Wolffia arrhiza*.

KANDUNGAN LEMBAPAN

Daripada Jadual 3, kandungan lembapan di dalam semua sampel *Wolffia arrhiza* menunjukkan peratus yang hampir sama serta tiada perbezaan signifikan. Tumbuhan telah dilaporkan mempunyai keupayaan untuk mengurangkan kehilangan air akibat transpirasi di dalam keadaan tinggi CO₂ (Velden 2014). Namun demikian, daripada kajian ini, keputusan menunjukkan bahawa keadaan tinggi CO₂ tidak memberi kesan kepada kandungan lembapan di dalam *Wolffia arrhiza*. Perbezaan komposisi media juga tidak menunjukkan perbezaan yang signifikan bagi kandungan lembapan. Keputusan ini selari dengan kajian lepas yang juga mendapati tahap kepekatan nitrogen yang berbeza tidak mempengaruhi kandungan air untuk biji jagung (Zhang et al. 2021).

JADUAL 2. Peratus pertumbuhan *Wolffia arrhiza* yang ditanam dalam kepekatan karbon dioksida (CO₂) dan komposisi media yang berbeza

Kepekatan CO ₂ (ppm)	Media pertumbuhan				
	Kawalan	A	B	C	D
500	79.843 ± 24.300 ^{de}	72.802 ± 16.324 ^e	85.991 ± 16.832 ^{de}	101.257 ± 20.121 ^{cd}	90.132 ± 10.576 ^{de}
800	132.464 ± 19.801 ^{ab}	120.697 ± 10.285 ^{bc}	141.041 ± 16.193 ^{ab}	148.058 ± 8.309 ^a	138.644 ± 15.687 ^{ab}

Media Kawalan : menurut N-media (Appenroth 2015)

Media A : 3 kali kepekatan nutrien yang lebih rendah berbanding media kawalan

Media B : 3 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

Media C : 5 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

Media D : 7 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

JADUAL 3. Kandungan lembapan (%) *Wolffia arrhiza* yang ditanam dalam kepekatan karbon dioksida (CO₂) dan komposisi media yang berbeza

Kepekatan CO ₂ (ppm)	Media pertumbuhan				
	Kawalan	A	B	C	D
500	97.183 ± 0.211 ^a	96.990 ± 0.219 ^a	97.177 ± 0.416 ^a	97.143 ± 0.603 ^a	97.170 ± 0.356 ^a
800	97.043 ± 0.100 ^a	97.390 ± 0.085 ^a	97.193 ± 0.142 ^a	97.090 ± 0.161 ^a	97.300 ± 0.339 ^a

Media Kawalan : menurut N-media (Appenroth 2015)

Media A : 3 kali kepekatan nutrien yang lebih rendah berbanding media kawalan

Media B : 3 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

Media C : 5 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

Media D : 7 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

KANDUNGAN PROTEIN

Wolffia arrhiza merupakan tumbuhan yang mempunyai kandungan protein yang tinggi iaitu 20-30%, dan nilai ini dapat diperbaiki dengan mengoptimalkan keadaan penanaman (Appenroth et al. 2017). Keputusan kandungan protein (Jadual 4) memperlihatkan tiada perbezaan signifikan pada kandungan protein antara sampel yang ditanam dalam keadaan tinggi CO₂ (800 ppm) dan sampel yang ditanam pada CO₂ normal (500 ppm). Telah dilaporkan bahawa keadaan tinggi CO₂ dapat meningkatkan proses sintesis karbohidrat namun ia akan mengekang asimilasi nitrogen di dalam tisu tumbuhan mengakibatkan kandungan protein berkurang apabila tumbuhan ditanam di dalam keadaan tinggi CO₂ (Krämer et al. 2022). Walau bagaimanapun, hasil kajian ini menunjukkan pengurangan protein tidak berlaku. Keputusan ini adalah baik kerana walau pun tiada peningkatan protein, ia juga menunjukkan tiada pengurangan kandungan protein dengan peningkatan tahap CO₂. Ini adalah kerana terdapat laporan bahawa keadaan tinggi CO₂ boleh memberi kesan negatif kepada kualiti nutrisi tumbuhan, pertumbuhan dan jangka hayat tumbuhan (Demmig-Adams et al. 2022) tetapi didapati tidak berlaku untuk *Wolffia arrhiza* dalam kajian ini.

Jadual 4 juga menunjukkan tiada perbezaan yang signifikan antara media yang berbeza untuk kedua-dua

keadaan tinggi CO₂ atau keadaan normal. Stitt dan Krapp (1999) melaporkan bahawa kadar pertumbuhan yang meningkat dalam keadaan tinggi CO₂ akan membawa kepada peningkatan penggunaan nutrien mineral seperti nitrogen. Namun, tiada perbezaan signifikan diperhatikan terhadap kandungan protein walau pun dengan peningkatan kandungan nitrogen. Ini mungkin disebabkan faktor cahaya yang disalurkan adalah panjang iaitu selama 24 jam. Proses fotosintesis bermula dengan kehadiran cahaya. Tenaga cahaya ditukar kepada ATP dan NADPH iaitu tenaga yang perlu untuk fasa fotosintesis seterusnya kitaran Calvin di mana gula dihasilkan. Tenaga ini juga diperlukan untuk proses asimilasi nitrogen bagi menghasilkan nitrat. Nitrat akan melalui proses reduktif bergabung dengan gula untuk menghasilkan asid amino yang seterusnya bergabung menghasilkan protein. Proses penggabungan reduktif nitrat ke asid amino ini berlaku dalam keadaan gelap (Yoneyama & Suzuki 2020).

Apabila terdapat peningkatan sumber nitrogen yang diberi kepada tumbuhan, ini boleh mengakibatkan pengumpulan nitrat yang tinggi dalam tumbuhan, dalam keadaan keamatan cahaya tinggi, tumbuhan akan menjalankan proses untuk menghasilkan nitrat lebih banyak berbanding proses sintesis protein. Ini mungkin adalah yang berlaku dalam kajian ini yang mana proses sintesis protein tidak meningkat meskipun dengan penambahan

kepekatan nitrogen kerana kehadiran sumber cahaya yang panjang. Dilaporkan bahawa apabila keamatan cahaya tinggi, sumber nitrogen yang rendah akan lebih berkesan dalam merangsang penghasilan protein (Khan, Yan & He 2018).

KANDUNGAN KARBOHIDRAT

Jadual 5 menunjukkan keputusan kandungan karbohidrat dalam sampel *Wolffia arrhiza* yang ditanam pada kepekatan CO₂ dan kepekatan nutrien yang berbeza. Daripada keputusan tersebut, dapat diperhatikan bahawa terdapat peningkatan kandungan karbohidrat ($p < 0.05$) apabila kepekatan CO₂ ditingkatkan tetapi hanya pada kepekatan nutrien yang tinggi (media B, C dan D). Pada tahap nutrien yang lebih rendah (media A dan kawalan), tiada perbezaan signifikan diperhatikan untuk karbohidrat apabila kepekatan CO₂ ditingkatkan. Ini menunjukkan bahawa keadaan tinggi CO₂ merangsang penghasilan karbohidrat hanya dengan kepekatan nutrien yang tinggi kerana *Wolffia arrhiza* memerlukan nutrien yang lebih untuk proses penghasilan karbohidrat (Kumar, Kumar & Mohapatra 2021).

Secara teori, kandungan karbohidrat dalam tumbuhan akan meningkat dengan keadaan CO₂ yang tinggi kerana ia menggalakkan kadar fotosintesis (Thompson et al. 2017). Sumber cahaya yang dibekalkan di dalam kajian ini secara berterusan membantu meningkatkan lagi proses fotosintesis. Proses fotosintesis melalui mekanisme asas kitaran Calvin akan menghasilkan karbohidrat. Oleh itu, untuk sampel dalam keadaan tinggi CO₂, keputusan memperlihatkan peningkatan signifikan ($p < 0.05$) kandungan karbohidrat sampel.

UJIAN PENANGKAPAN RADIKAL (DPPH)

Jadual 6 menunjukkan kapasiti antioksidan berasaskan ujian penangkapan radikal DPPH untuk sampel *Wolffia arrhiza* yang telah ditanam pada keadaan CO₂ dan media dengan komposisi nutrien yang berbeza. Keputusan menunjukkan tiada perbezaan signifikan hasil daripada peningkatan CO₂ terhadap nilai DPPH bagi setiap jenis media. Begitu juga tiada perbezaan signifikan diperhatikan untuk nilai DPPH apabila kepekatan nutrien ditingkatkan di dalam media sama ada pada keadaan CO₂ yang rendah mahupun tinggi. Telah dilaporkan bahawa keadaan tinggi CO₂ dapat menggalakkan pengumpulan antioksidan dalam tanaman (Dong et al. 2018b), namun, daripada Jadual 6, keputusan memperlihatkan bahawa, tiada perubahan ketara dapat dilihat antara sampel yang ditanam di dalam kepekatan CO₂ yang tinggi dan pada tahap CO₂ normal untuk setiap tahap kepekatan nutrien yang berbeza.

Sebaliknya terdapat juga kajian lepas yang melaporkan keadaan tinggi CO₂ akan mempengaruhi proses biologi untuk sistem antioksidan kerana dalam keadaan tinggi CO₂, aktiviti enzim antioksidan akan terganggu seperti pengurangan aktiviti superoksida dismutase untuk tumbuhan cemara, *pine* dan oak yang mengakibatkan pengurangan nilai aktiviti antioksidan (Pritchard et al. 2000). Kesan keadaan tinggi CO₂ bukan sahaja perlu dipertimbangkan ke atas aktiviti enzim antioksidan, malahan jenis atau spesies tumbuhan juga memainkan peranan. Hasil kajian ini memperlihatkan bahawa tiada perubahan ketara dapat dilihat pada nilai DPPH untuk semua sampel dan ini menunjukkan bahawa keadaan tinggi CO₂ dan kepekatan nitrogen yang berbeza tidak menjejaskan kapasiti antioksidan *Wolffia arrhiza*.

JADUAL 4. Peratus kandungan protein *Wolffia arrhiza* yang ditanam dalam kepekatan karbon dioksida (CO₂) dan komposisi media yang berbeza

Kepekatan CO ₂ (ppm)	Media pertumbuhan				
	Kawalan	A	B	C	D
500	38.311 ± 5.206 ^{ab}	33.877 ± 2.395 ^b	33.997 ± 5.734 ^b	31.320 ± 5.183 ^b	39.857 ± 12.948 ^{ab}
800	32.011 ± 4.440 ^b	45.014 ± 4.165 ^{ab}	33.230 ± 4.013 ^b	43.027 ± 5.743 ^{ab}	57.710 ± 14.246 ^a

Media Kawalan : menurut N-media (Appenroth 2015)

Media A : 3 kali kepekatan nutrien yang lebih rendah berbanding media kawalan

Media B : 3 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

Media C : 5 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

Media D : 7 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

JADUAL 5. Peratus kandungan karbohidrat *Wolffia arrhiza* yang ditanam dalam kepekatan karbon dioksida (CO₂) dan komposisi media yang berbeza

Kepekatan CO ₂ (ppm)	Media Pertumbuhan				
	Kawalan	A	B	C	D
500	43.293 ± 3.5103 ^{cd}	47.763 ± 5.0265 ^{cd}	41.833 ± 1.4550 ^d	44.573 ± 4.8510 ^{cd}	42.170 ± 3.2212 ^d
800	50.650 ± 1.2287 ^{bcd}	53.840 ± 0.2464 ^{abc}	61.420 ± 5.3471 ^{abc}	64.853 ± 2.7402 ^a	64.307 ± 6.0107 ^a

Media Kawalan : menurut N-media (Appenroth 2015)

Media A : 3 kali kepekatan nutrien yang lebih rendah berbanding media kawalan

Media B : 3 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

Media C : 5 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

Media D : 7 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

JADUAL 6. Peratus nilai DPPH *Wolffia arrhiza* yang ditanam dalam kepekatan karbon dioksida (CO₂) dan komposisi media yang berbeza

Kepekatan CO ₂ (ppm)	Media pertumbuhan				
	Kawalan	A	B	C	D
500	65.040 ± 5.020 ^{ab}	48.260 ± 11.200 ^b	61.190 ± 3.900 ^{ab}	70.280 ± 1.910 ^{ab}	67.870 ± 5.050 ^{ab}
800	71.180 ± 6.860 ^a	64.860 ± 12.480 ^{ab}	70.160 ± 5.400 ^{ab}	72.200 ± 10.870 ^a	73.350 ± 7.540 ^a

Media Kawalan : menurut N-media (Appenroth 2015)

Media A : 3 kali kepekatan nutrien yang lebih rendah berbanding media kawalan

Media B : 3 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

Media C : 5 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

Media D : 7 kali kepekatan nutrien yang lebih tinggi berbanding media kawalan

KESIMPULAN

Daripada kajian ini, dapat disimpulkan bahawa keadaan tinggi CO₂ dapat membantu dari segi pertumbuhan dan peningkatan kandungan karbohidrat *Wolffia arrhiza*, namun faktor ini tidak mempengaruhi kandungan protein dan nilai kapasiti antioksidan DPPH. Terdapat perkaitan antara keadaan tinggi CO₂ dengan tahap nutrien yang tinggi untuk kandungan karbohidrat *Wolffia arrhiza* yang mana kesan peningkatan karbohidrat pada tahap CO₂ yang tinggi bergantung kepada tahap nutrien yang dibekalkan. Lebih banyak kajian perlu dijalankan untuk lebih memahami perubahan yang berlaku secara fisiologi bagi *Wolffia arrhiza* hasil daripada penanaman pada CO₂ yang tinggi supaya dapat meningkatkan hasil.

RUJUKAN

- AOAC. 2016. *Official Methods of Analysis*. 20th ed. Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International, USA.
- Appenroth, K.J. 2015. Useful Methods 3: Media for *in vitro*-cultivation of duckweed. *Duckweed Forum: Newsletter for the Community of Duckweed Research and Applications, Part 2* 3(4): 180-186.

- Appenroth, K.J., Sree, K.S., Bog, M., Ecker, J., Seeliger, C., Bohm, V., Lorkowski, S., Sommer, K., Vetter, W., Tolzin-Banach, K., Kirmse, R., Leiterer, M., Dawczynski, C., Liebisch, G. & Jahreis, G. 2018. Nutritional value of the duckweed species of the genus *Wolffia* (Lemnaceae) as human food. *Frontiers in Chemistry* 6: 483. doi:10.3389/chem2018.00483
- Appenroth, K.J., Sree, K.S., Bohm, V., Hammann, S., Vetter, W., Leiterer, M. & Jahreis, G. 2017. Nutritional value of the duckweed (Lemnaceae) as human food. *Food Chemistry* 217: 266-273. doi:10.3389/chem2018.00483
- Beukelaar, M.F.A., Zeinstra, G.G., Mes, J.J. & Fischer, A.R.H. 2019. Duckweed as human food. The influence of meal context and information on duckweed acceptability of Dutch consumers. *Food Quality and Preference* 71: 76-86.
- Bhatia, A., Mina, U., Kumar, V., Tomer, R., Kumar, A., Chakrabarti, B., Singh, R.N. & Singh, B. 2021. Effect of elevated ozone and carbon dioxide interaction on growth, yield, nutrient content and wilt disease severity in chickpea grown in Northern India. *Heliyon* 7(1): e06049.

- Demmig-Adams, B., Lopez-Pozo, M., Polutchko, S.K., Fourounjian, P., Stewart, J.J., Zenir, M.C., & Adams III, W.W. 2022. Growth and nutritional quality of Lemnaceae viewed comparatively in an ecological and evolutionary context. *Plants* 11(2): 145. doi: org/10.3390/plants11020145
- Devlamnyck, R., Fernandes de Souza, M., Bog, M., Leenknecht, J., Eeckhout, M., & Meers, E. 2020. Effect of the growth medium composition on nitrate accumulation in the novel protein crop *Lemna minor*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 206: 111380.
- Dong, J.L., Li, X., Gruda, N. & Duan, Z.Q. 2018a. Interactive effects of elevated carbon dioxide and nitrogen availability on fruit quality of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Integrative Agriculture* 17(11): 2438-2446.
- Dong, J.L., Gruda, N., Lam, S.K., Li, X. & Duan, Z. 2018b. Effects of elevated CO₂ on nutritional quality of vegetables: A review. *Frontiers in Plant Science* 9: 924.
- Duval, B.D. & Blankinship, J.C. 2012. CO₂ effects on plant nutrient concentration depend on plant functional group and available nitrogen: A meta-analysis. *Plant Ecology* 213(3): 505-521. doi:10.1007/s11258-011-9998-8
- Hu, Z., Fang, Y., Yi, Z., Tian, X., Li, J., Jin, Y., He, K., Liu, P., Du, A., Huang, Y. & Zhao, H. 2022. Determining the nutritional value and antioxidant capacity of duckweed (*Wolffia arrhiza*) under artificial conditions. *LWT – Food Science and Technology* 153: 112477.
- Kadir, A.A., Abdullah, S.R.S., Othman, B.A., Hassan, H.A., Othman, A.R., Imron, M.F., Ismail, N.I. & Kurniawan, S.B. 2020. Dual function of *Lemna minor* and *Azolla pinnata* as phytoremediator for palm oil mill effluent and as feedstock. *Chemosphere* 259: 127468.
- Kant, S., Seneweera, S., Rodin, J., Mateme, M., Burch, D., Rothstein, S.J. & Spangenberg, G. 2012. Improving yield potential in crops under elevated CO₂: Integrating the photosynthetic and nitrogen utilization efficiencies. *Frontiers in Plant Science* 3: 162.
- Khan, K.A., Yan, Z. & He, D. 2018. Impact of light intensity and nitrogen of nutrient solution on nitrate content in three lettuce cultivars prior to harvest. *Journal of Agricultural Science* 10(6): 99-109.
- Krämer, K., Kepp, G., Brock, J., Stutz, S. & Heyer, A.G. 2022. Acclimation to elevated CO₂ affects the C/N balance by reducing *de novo* N-assimilation. *Physiologia Plantarum* 174(1): e13615.
- Kumar, S., Kumar, S. & Mohapatra, T. 2021. Interaction between macro- and micro-nutrients in plants. *Frontiers in Plant Science* 12: 665582.
- Kotowska, U., Karpinska, J., Kapelewska, J., Kowejsza, E.M., Piotrowska-Niczyporuk, A., Piekutin, J. & Kotowski, A. 2018. Removal of phthalates and other contaminants from municipal wastewater during cultivation of *Wolffia arrhiza*. *Process Safety and Environmental Protection* 120: 268-277.
- Lam, E. 2015. Duckweed futures: Duckweed's renaissance as a model system for plant biology? *Duckweed Research and Applications Part 2* 3(4): 172-177.
- Lee, Y.H., Sang, W.G., Baek, J.K., Kim, J.H., Shin, P., Seo, M.C. & Cho, J.I. 2020. The effect of concurrent elevation in CO₂ and temperature on the growth, photosynthesis, and yield of potato crops. *PLoS ONE* 15(10): e0241081.
- Lenghari, S.J., Wahocho, N.A., Laghari, G.M., Laghari, A.H., Bhabhan, G.M., Talpur, K.H., Bhutto, T.A., Wahocho, S.A. & Lashari, A.A. 2016. Role of nitrogen for plant growth and development: A review. *Advances in Environmental Biology* 10(9): 209-218.
- Mohedano, R.A., Costa, R.H.R. & Filho, P.B. 2016. Proper rate of N is essential for improvement of horticultural crops. *American Latin Journal of Environmental Biotechnology and Algae* 7(1): 30-41.
- Pritchard, S.G., Ju, Z., Santen, E.V., Qiu, J., Weaver, D.B., Prior, S.A. & Rogers, H.H. 2000. The influence of elevated CO₂ on the activities of antioxidative enzymes in two soybean genotypes. *Australian Journal of Plant Physiology* 27: 1061-1068.
- Romanowska-Duda, Z. & Pszczolkowski, W. 2013. Lemnaceae biomass as an alternative substrate for renewable energy. *Acta Innovations* 9: 25-31.
- Sein, A.M., Sein, M.M. & Aye, M.T. 2020. Effect of *Wolffia* sp. as supplemental feed on growth performance and body composition of Indian Major Carp, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) fingerlings. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 416: 012013.
- Siripahanakul, T., Thongsila, S., Tanuthong, T. & Chockchaisawasdee, S. 2013. Product development of *Wolffia*-pork ball. *International Food Research Journal* 20(1): 213-217.
- Sirirustananun, N. & Jongput, B. 2021. Appropriate stocking density for growth of watermeal (*Wolffia arrhiza*) and its efficiency of total ammonia nitrogen removal. *International Journal of Agricultural Technology* 17(1): 325-336.

- Stitt, M. & Krapp, A. 1999. The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition: The physiological and molecular background. *Plant, Cell and Environment* 22: 583-621.
- Sun, J., Luo, H., Jiang, Y., Wang, L., Xiao, C. & Weng, L. 2022. Influence of nutrient (NPK) factors on growth and pharmacodynamic component biosynthesis of *Atractylodes chinensis*: An insight on acetyl-CoA carboxylase (ACC), 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMGR), and Farnesyl Pyrophosphate Synthase (FPPS) signaling responses. *Frontiers in Plant Science* 13: 799201.
- Suppadit, T., Phoochinda, W., Phutthilerphong, S. & Nieobubpa, C. 2008. Treatment of effluent from shrimp farms using watermeal (*Wolffia arrhiza*). *Science Asia* 34: 163-168.
- Thinh, N.C., Shimono, H., Kumagai, E. & Kawasaki, M. 2017. Effects of elevated CO₂ concentration on growth and photosynthesis of Chinese yam under different temperature regimes. *Plant Production Science* 20(2): 227-236.
- Thompson, M., Gamage, D., Hirotsu, N., Martin, A. & Seneweera, S. 2017. Effects of elevated carbon dioxide on photosynthesis and carbon partitioning: A perspective on root sugar sensing and hormonal crosstalk. *Frontiers in Physiology* 8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00578>
- Tipnee, S., Jutiviboonsuk, A. & Wongtrakul, P. 2017. The bioactivity study of active compounds in *Wolffia globosa* extract for an alternative source of bioactive substances. *Cosmetics* 4(4):53. doi:10.3390/cosmetics4040053
- Velden, D.V.D. 2014. The influence of soil moisture on stomatal conductance responsiveness to CO₂. Thesis. Palaeoecology, Department of Physical Geography, Faculty of Geosciences, Utrecht University (Unpublished).
- Wang, L., Yang, L., Xiong, F., Nie, X., Li, C., Xiao, Y. & Zhou, G. 2020. Nitrogen fertilizer levels affect the growth and quality parameters of *Astragalus mongolicus*. *Molecules* 25(2):381. doi:10.3390/molecules25020381
- Yoneyama, T. & Suzuki, A. 2020. Light-independent nitrogen assimilation in plant leaves: Nitrate incorporation into glutamine, glutamate, aspartate, and asparagine traced by ¹⁵N. *Plants* 9(10): 1303.
- Zenir, M.C., Lopez-Pozo, M., Polutchko, S.K., Stewart, J.J., Adams, W.W., Escobar, A. & Demmig-Adams, B. 2023. Productivity and nutrient quality of *Lemna minor* as affected by microbiome, CO₂ level and nutrient supply. *Stresses* 3:69-85.
- Zhang, Y.M., Xue, J., Zhang, G.Q., Zhang, W.X., Wang, K.R., Ming, B., Hou, P., Xie, R.Z., Liu, C.W. & Li, S.K. 2021. Does nitrogen application rate affect the moisture content of corn grains? *Journal of Integrative Agriculture* 20(10): 2627-2638.

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: yusofm@ukm.edu.my