

Kandungan Klorofil Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Hasil Seleksi Ketahanan terhadap Cekaman Kekeringan secara *In Vitro*

Chlorophyll Content of Vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews) Planlet Result Selection for Resistant to Drought Stress by In Vitro

M. Sobran Jamil , Endang Nurcahyani, dan Zulkifli

*Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung
Jl. Prof. Dr. Soemantri Brojonegoro No. 1, Bandar Lampung, Lampung, Indonesia, 35145¹
E-mail : muhammad.sobran@gmail.com*

ABSTRACT

A Study of the content of Chlorophyll a, b and the total on vanilla which was swlwcted in vitro by adding up polyethylene glycol (PEG) 6000 to MS medium at various consentrations of 5%, 10%, 15%, and 20% had been conducted at the Laboratory of Tissue Culture, MIPA faculty, Biology Department, Lampung University, on January to March 2015. At experiment was arranged in a complete random design with six replication. The analysis of variance and BNT test were evaluated in real level of 5%. The calculation and extraction of chlorophyll were conducted by using Harborn (1987) method. This experiment used acetone 80% as solution. The absorbent was measured by using spectrophotometer Shimadzu in 646 and 663 wave length. The result showed that the content of chlorophyll a and b and the total on vanilla planlet were decreased. The content of Chlorophyll a and total of the MS medium which were treated by 5% to 20% concentrations of PEG 6000 was decreased compared to the control. As for the b chlorophyll, only medium with 15% and 20% threatment were decreased compared to the control.

*Key word : *Vanilla planifolia* Andrews, Chlorophyll, PEG 6000, Drought Stress*

Diterima: 2 April 2015, disetujui 24 April 2015

PENDAHULUAN

Vanilla planifolia Andrews merupakan salah satu tanaman dari keluarga Orchidaceae yang buahnya bernilai ekonomi tinggi dan saat ini telah berkembang di Indonesia (Rosman,2005). Salah satu hambatan dalam budidaya vanili adalah kekeringan yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan vanili (Purwanto dan Agustono, 2010). Mengingat Lampung merupakan daerah tropis dengan kondisi curah hujan yang menurun setiap tahunnya maka akan memberikan dampak kekeringan (Manik *et al.*, 2014).

Penggunaan varietas unggul yang tahan terhadap cekaman kekeringan merupakan salah satu alternatif mengatasi kondisi iklim yang berubah-ubah seperti sekarang ini. Pengembangan kultivar *Vanilla planifolia* Andrews dapat dilakukan dengan metode seleksi *in vitro* yaitu mengkulturkan eksplan dalam medium yang mengandung *polyethylene glycol* (PEG) konsentrasi selektif (Krizek,1985)

PEG diharapkan sebagai kondisi selektif untuk mengetahui respon jaringan yang ditanam terhadap stress kekeringan serta mengisolasi sel atau jaringan varian yang mempunyai toleransi terhadap *stress*

(Badami dan Amzeri, 2010). Planlet vanili yang mampu tumbuh dalam medium PEG nantinya apabila diregenerasikan diharapkan dapat menghasilkan galur tahan terhadap cekaman kekeringan, dengan demikian diharapkan akan meningkatkan kembali kualitas dan produksi tanaman vanili di Indonesia.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dan menganalisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet vanili meliputi yaitu kandungan klorofil a, b dan total klorofil.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung dari bulan Januari sampai Maret 2015. Penelitian dilaksanakan dalam rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuan adalah penambahan PEG ke dalam medium MS (*Murashige & Skoog*) dengan konsentrasi 0% (kontrol), 5%, 10%, 15%, dan 20%. Satuan percobaan adalah planlet vanili yang ditanam pada medium MS tersebut. Analisis ragam dan uji BNT dilakukan pada taraf nyata 5%.

Pelaksanaan Penelitian

Persiapan medium tanam dan seleksi

Medium yang digunakan adalah *Murashige & skoog* (MS) padat dengan penambahan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh). Setelah medium dicairkan, kemudian medium disterilisasi selama 15 menit. Medium MS yang sudah disterilkan kemudian ditambah *Polyethylene Glycol* (PEG) 6000 dengan konsentrasi 0% (kontrol), 5%, 10%, 15%, dan 20%.

Analisis Klorofil.

Bahan untuk analisis klorofil menggunakan daun planlet *Vanilla planifolia* Andrews yang sudah diimbas dengan PEG 6000, menggunakan metode Harbourne (1987) dengan spektrofotometer. Daun planlet *Vanilla planifolia* Andrews yang seragam sebanyak 0,1 g, kemudian digerus dengan mortar (*pestle*) dan ditambahkan 10 mL aseton 80%. Setelah itu, larutan disaring dengan kertas *Whatmann* No. 1, dan dimasukkan ke dalam flakon serta ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar (aseton 80%) di ambil sebanyak 1 mL, kemudian dimasukkan dalam kuvet. Setelah itu, dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang () 646 nm dan 663 nm, dengan ulangan tiap sampel sebanyak 3 kali. Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus: Klorofil total = $17,3 A_{646} + 7,18 A_{663}$ mg/L, Klorofil a = $12,21 A_{663} - 2,81 A_{646}$ mg/L, Klorofil b = $20,13 A_{646} - 5,03 A_{663}$ mg/L (Harbourne, 1987)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan klorofil a

Kandungan klorofil a planlet vanili yang ditumbuhkan pada medium MS (*Murashige & Skoog*) dengan penambahan PEG 6000 berbagai konsentrasi disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan hasil analisis ragam pada taraf nyata 5% yang disajikan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa penambahan PEG 6000 kedalam medium MS dengan berbagai konsentrasi berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil a planlet vanili.

Tabel 1. Kandungan klorofil a planlet vanili

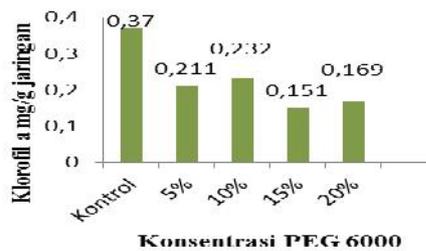
Konsentrasi PEG 6000 (%)	Kandungan klorofil (mg/g Jaringan)
0 (kontrol)	0.370 ± 5.23E-05 ^a
5	0.211 ± 3.07E-04 ^{bc}
10	0.232 ± 2.01E-04 ^b
15	0.152 ± 2.53E-04 ^d
20	0.169 ± 1.43E-04 ^{cd}

Keterangan :

Klorofil total = $\bar{y} \pm SE$, \bar{y} = nilai rata-rata kandungan klorofil total, SE = standar eror Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%, BNT (0.05) = 0.101

Uji BNT pada taraf 5% dengan berbagai konsentrasi PEG 6000 menunjukkan bahwa kandungan klorofil a planlet vanili pada konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% lebih rendah dari kandungan klorofil a planlet vanili kontrol. Dengan perbandingan data yang didapatkan adalah 5% dan 10% tidak berbeda nyata, 5% dan 20% tidak berbeda nyata, serta 15% dan 20% tidak berbeda nyata.

Perbandingan kandungan klorofil a planlet vanili yang ditumbuhkan pada medium MS dengan berbagai konsentrasi PEG 6000 disajikan pada Gambar 1. Berdasarkan Gambar 1 terlihat bahwa kandungan klorofil planlet vanili mengalami penurunan pada konsentrasi 5% kemudian sedikit naik pada 10%, kembali mengalami penurunan pada konsentrasi 15% dan sedikit mengalami kenaikan pada konsentrasi 20% namun dari grafik tidak ditemukan klorofil yang diatas dari kontrol.



Gambar 1. Grafik batang perbandingan klorofil a planlet vanili.

Kandungan klorofil b

Kandungan klorofil b planlet vanili yang diseleksi dengan PEG 6000 ditunjukkan pada Tabel 2. Analisis ragam pada taraf 5% di Tabel 2 menunjukkan bahwa penambahan PEG 6000 dalam medium MS berpengaruh nyata terhadap klorofil b planlet vanili yaitu pada konsentrasi 15% dan 20%.

Tabel 2. Kandungan klorofil b planlet vanili

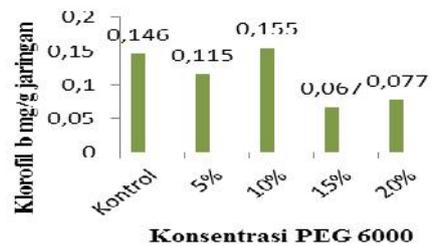
Konsentrasi PEG 6000 (%)	Kandungan Klorofil (mg/g Jaringan)
0 (kontrol)	0.146 ± 8.23E-05 ^b
5	0.115 ± 7.14E-05 ^{bc}
10	0.154 ± 1.26E-03 ^a
15	0.066 ± 1.24E-05 ^c
20	0.077 ± 3.10E-05 ^c

Keterangan :

Klorofil total = $\bar{y} \pm SE$, \bar{y} = nilai rata-rata kandungan klorofil total, SE = standar eror Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%, BNT (0.05) = 0.101

Uji BNT pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa konsentrasi PEG 6000 berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil b. Kandungan klorofil b planlet vanili pada medium MS yang mengandung PEG 6000 dengan konsentrasi 10% lebih rendah daripada kandungan klorofil kontrol. Sedangkan kandungan klorofil b pada konsentrasi 15% dan 20% berbeda nyata dengan kontrol.

Perubahan kandungan klorofil b planlet vanili disajikan pada Gambar 2. Dari gambar 2 terlihat bahwa kandungan klorofil planlet vanili mengalami penurunan pada konsentrasi 5%, 15% dan 20%. Sedangkan pada konsentrasi 10% tidak mengalami penurunan.



Gambar 2. Grafik batang perbandingan klorofil b planlet vanili

Kandungan Klorofil Total

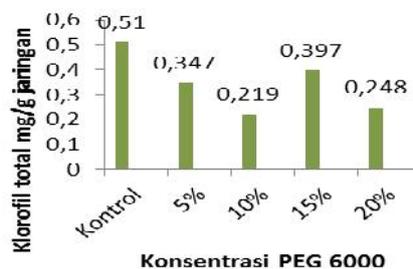
Rata-rata kandungan klorofil total pada planlet vanili yang diseleksi dengan PEG 6000 disajikan pada Tabel 3. Analisis ragam dengan taraf 5% pada Tabel 3 menunjukkan bahwa penambahan PEG 6000 kedalam medium MS berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil total planlet vanili.

Tabel 3. Kandungan klorofil total planlet Vanili

Konsentrasi PEG 6000 (%)	Kandungan Klofil (mg/g Jaringan)
0 (kontrol)	0.509 ± 1.19E-04 ^a
5	0.346 ± 1.37E-03 ^c
10	0.396 ± 3.01E-03 ^b
15	0.218 ± 3.55E-04 ^d
20	0.247 ± 2.91E-04 ^{cd}

Klorofil total = $\bar{y} \pm SE$, \bar{y} = nilai rata-rata kandungan klorofil total, SE = standar error Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%, BNT (0.05) = 0.101

Uji BNT pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa konsentrasi PEG 6000 berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil total. Kandungan klorofil total planlet vanili pada medium MS yang mengandung PEG 6000 dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20% lebih rendah daripada kandungan klorofil total pada kontrol. Pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20% berbeda nyata dengan kontrol. Perubahan kandungan klorofil total planlet vanili disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik batang perbandingan klorofil total pada planlet vanili

Dari gambar 3 terlihat bahwa kandungan klorofil planlet vanili mengalami penurunan, namun pada konsentrasi 15% klorofil total mengalami sedikit kenaikan meskipun tidak diatas klorofil total kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan PEG 6000 dengan konsentrasi 5% sampai 20% menurunkan kandungan klorofil a dan klorofil total secara nyata, sedangkan pada klorofil b berpengaruh pada medium MS yang diberi PEG dengan konsentrasi 15% dan 20%. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan

kandungan konsentrasi klorofil pada planlet vanili yang ditumbuhkan pada medium MS yang ditambah PEG 6000 sebagai pengkondisi cekaman kekeringan. Turunnya kandungan klorofil yang terjadi pada planlet vanili ini berkorelasi positif dengan penelitian Ai dan Song (2010) tentang pengujian kandungan klorofil a, b dan total pada tanaman padi dengan penambahan PEG pada media tumbuh mendapatkan hasil menurunnya konsentrasi klorofil. Hasil ini juga berkorelasi dengan penelitian Ai (2011) tentang kandungan klorofil total pada tanaman jahe yang ditanam dengan kondisi kekeringan yang didapatkan hasil menurunnya kandungan klorofil.

Penurunan kandungan klorofil disebabkan karena aspek pertumbuhan pada tanaman dipengaruhi oleh air. Kekurangan air dapat menyebabkan respons fisiologis yaitu penurunan konsentrasi klorofil daun yang disebabkan oleh terhambatnya pembentukam klorofil, penurunan enzim rubisco, dan penyerapan unsur hara yang terhambat terutama nitrogen dan magnesium yang berperan penting dalam sintesis klorofil (Ai dan Banyo, 2011)

Menurut Fitter dan Hay (1994) kekurangan air akan mempengaruhi proses-proses biokimia yang berlangsung dalam sel. Kekurangan air berpengaruh terhadap reaksi-reaksi biokimia fotosintesis, sehingga laju fotosintesis menurun. Tersedianya air yang kurang juga akan menghambat sintesis klorofil pada daun yang diakibatkan laju fotosintesis menurun (Hendriyani dan Setiari, 2009).

Dengan demikian kandungan klorofil dapat digunakan sebagai indikator cekaman kekeringan dan diharapkan aplikasi penggunaan PEG 6000 ini mampu menyeleksi tanaman yang tahan terhadap cekaman kekeringan sehingga didapatkan varietas tanaman yang tahan terhadap cekaman kekeringan.

KESIMPULAN

Berbagai konsentrasi PEG 6000 yang ditambahkan pada medium MS mampu menurunkan kandungan klorofil. Penambahan PEG 6000 pada medium MS dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20% menurunkan kandungan klorofil a dan total, sedangkan PEG 6000 pada konsentrasi 15% dan 20% menurunkan kandungan klorofil b.

DAFTAR PUSTAKA

- Ai N. S. 2010. Pengujian Kandungan Klorofil Total, Klorofil A dan B Sebagai Indikator Cekaman Kekeringan Pada Padi (*Oryza sativa* L.). *Jurnal Ilmiah Sains*, 10 (1). pp. 86-90. ISSN 1412-3770
- Ai N.S dan Banyo Y. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun sebagai Indikator Kekurangan Air Pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains Vol. 11 No. 2*
- Badami K, Amzeri A. 2010. Seleksi In Vitro untuk toleransi terhadap kekeringan pada jagung (*Zea mays* L.) dengan Polyethylene Glycol (PEG). *Agrovigor Volume 3 No 1*
- Fitter, A.H. dan R.K.M. Hay. 1994. *Fisiologi Lingkungan Tanaman*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Hendriyani S. I dan Setiari N. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna Sinensis*) Pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. *J. Sains & Mat. Vol. 17 No. 3. Hal 145-150*
- Krizek, D.T. 1985. Methods of inducing water stress in plant. *Hort. Sci. (20):1028-1038*.

M. Sobran Jamil , Endang Nurcahyani, dan Zulkifli : Kandungan Klorofil Planlet Vanili.....

Manik T K, Rosadi B, Nurhayati E. 2014. Mengkaji Dampak Perubahan Iklim Terhadap Distribusi Curah Hujan Lokal di Propinsi Lampung. *Forum Geografi, Vol. 28, No. 1 hal 73 – 86*

Purwanto , Agustono T. 2010. Kajian Fisiologi Tanaman Kedelai Pada Berbagai Kepadatan Gulma Teki Dalam Kondisi Cekaman Kekeringan. *J. Agroland 17 (2) : 85 – 90*

Rosman R. 2005. Status dan Strategi Pengembangan Panili di Indonesia. *Prespektif Volume 4 Nomor 2, hal 43 – 54*