

Kandungan Klorofil Daun Planlet Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) Hasil Seleksi dengan Asam Salisilat secara *In vitro*

Chlorophyll Content of Leaves of Moon Orchids Plantlet (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) Results *In vitro* Salicylic Acid Selection

Eka Susilowati , Endang Nurcahyani dan Martha Lulus Lande

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

ABSTRACT

Phalaenopsis amabilis is one of Indonesias national flowers. *P.amabilis* has beautiful flowers and exciting and high economic value. However, there are some constraints in its development, one of which is Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum*, for this is not maximized in handling. One of effective procedure to control the disease is to use salicylic acid as a selective agent resistance to the disease. Study of the effect of the addition of salicylic acid (concentrations 15, 30, 45 and 60 ppm) have been studied *in vitro* in medium VW (Vacint and Went) on the content of chlorophyll a, b, and total leaf plantlets *P.amabilis*. The research was implemented in tissue culture laboratory, Department of Biology, Faculty of MIPA, University of Lampung from February to March 2015. This study used a completely randomized design with 3 replications. Analysis of variance and LSD test performed at 5% significance level. Calculation and extraction of chlorophyll was conducted by Harbourne method (1987). The absorbance was measured with a (Shimadzu UV 800) spectrophotometer at wavelength of 663 and 646 nm. The results showed that the content of chlorophyll a, b, and total plantlets of *P. amabilis* leaves significantly increased at the concentration of salicylic acid in the medium VW 15, 30, 45 and 60 ppm compared with control (0 ppm).

Key words : *Phalaenopsis amabilis* plantlets, chlorophyll, salicylic acid, VW medium.

Diterima: 2 April 2015, disetujui 24 April 2015

PENDAHULUAN

Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) adalah salah satu bunga nasional Indonesia. Indonesia memiliki tiga bunga nasional yang ditetapkan melalui Keputusan Presiden Nomor 4/1993, yaitu bunga melati (*Jasminum sambac* L.) sebagai puspa bangsa, bunga padma raksasa (*Rafflesia arnoldii* R. Br.) sebagai puspa langka, dan bunga anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) sebagai puspa pesona (Puspitaningtyas dan Mursidawati, 2010). Disamping keindahannya, tanaman anggrek memiliki beberapa kendala dalam masa pertumbuhannya, salah satunya penyakit layu *Fusarium* yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* (Djatnika, 2012).

F. oxysporum merupakan jamur yang menular melalui tanah atau bahan tanaman yang berasal dari tanaman sakit, dan menginfeksi tanaman melalui luka pada akar yang dapat menyebabkan penyakit layu pada tanaman. Patogen ini dapat bertahan hidup dalam tanah berupa klamidospora dalam jangka waktu yang lama meskipun lahan tidak ditanami. Patogen ini juga dapat menyerang pada semua stadium. Tanaman muda yang terserang menjadi busuk pada bagian bawah batang, daun-daun layu mengerut dan akhirnya mati (Semangun, 1989).

Berdasarkan permasalahan diatas, maka perlu adanya solusi untuk mengatasi tanaman *P. Amabilis* dari penyakit layu *Fusarium*. Berbagai upaya selama ini telah dilakukan dalam pengendalian penyakit layu *Fusarium*. Usaha-usaha tersebut diantaranya penggunaan benih sehat, rotasi tanaman, tumpang sari dan dengan pestisida(fungisida), tetapi tidak selalu memberikan hasil yang memuaskan, bahkan dengan menggunakan fungisida sangat merugikan bagi lingkungan (Freeman *et al.*,2002). Berdasarkan hal tersebut perlu dicari alternatif lain yaitu dengan menciptakan suatu kultivar yang tahan penyakit, salah satunya dengan menggunakan agens pengendali penyakit asam salisilat.

Asam salisilat merupakan salah satu bentuk ketahanan tumbuhan secara kimia. Asam salisilat lebih dominan untuk mengatasi serangan patogen biotrof (patogen yang aktif pada jaringan hidup) dan virus. Pembentukan senyawa asam salisilat merupakan bentuk pengaktifan gen ketahanan pada tanaman akibat adanya gen virulensi pada patogen (*vir gene*). Mekanisme ketahanan melalui jalur asam salisilat berhubungan dengan protein-protein yang terkait dengan patogenesis(*pathogenesis-related proteins/PR proteins*) seperti kitinase, peroksidase, -glukanase dan PR-1(Corina *et al.*, 2009; Rebecca *et al.*, 2007). Penelitian ini dilakukan pengimbasan *P. amabilis* dengan menggunakan asam salisilat.*P. amabilis* yang tahan asam salisilat diharapkan tahan juga dengan penyakit layu *Fusarium*.

Sejauh ini belum ada penelitian *P. amabilis* dengan menggunakan asam salisilat untuk mengendalikan penyakit layu *Fusarium*. Salah satu parameter yang digunakan untuk mengetahui *P. amabilis* asam salisilat adalah kandungan klorofil, oleh karena itu penelitian ini dilakukan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung dari bulan Februari sampai Maret 2015.

Penelitian dilaksanakan dalam rancangan acak lengkap dengan 4 perlakuan dan kontrol dengan 3 ulangan. Perlakuan adalah penambahan asam salisilat ke dalam medium VW(*Vacint and Went*) dengan konsentrasi 0 ppm 15 ppm, 30 ppm,45 ppm, dan 60 ppm dan kontrol(0 ppm). Satuan percobaan adalah planlet *P. amabilis* yang ditanam pada medium VW tersebut. Analisis ragam dan uji BNT dilakukan pada taraf nyata 5%.

Pelaksanaan Penelitian

Persiapan Medium Tanam dan Seleksi

Medium yang digunakan adalah VW(*Vacint and Went*) padat dengan penambahan ZPT(Zat Pengatur Tumbuh) BAP 1 mg/l. Setelah medium dicairkan, kemudian medium disterilisasi selama 15 menit. Medium VW yang sudah disterilkan kemudian ditambah asam salisilat dengan konsentrasi 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, dan 60 ppm dan kontrol(0 ppm).

Penanaman Planlet Dalam Medium SeleksiAsam Salisilat

Eksplan yang digunakan berupa planlet steril. Planlet-planlet dari botol kultur dikeluarkan dengan *scalpel* steril dan satu-satu diletakkan di atas cawan petri berdiameter 10 cm, kemudian planlet dipilah satu-

satu, setelah itu ditanam pada masing-masing botol kultur yang berisi medium perlakuan yang telah ditentukan seperti pada butir 2 di atas. Masing-masing konsentrasi dilakukan 3 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 2 eksplan *P. amabilis* dalam setiap botol kultur.

Analisis Kandungan Klorofil

Bahan untuk analisis klorofil menggunakan daun planlet *P. amabilis* yang sudah diimbas dengan asam salisilat, menggunakan metode Harbourne(1987) dengan spektrofotometer(Shimadzu UV 800), langkah kerjanya sebagai berikut: Daun planlet *P. amabilis* yang seragam sebanyak 0,1 g dihilangkan ibu tulang daunnya, kemudian digerus dengan mortar(*pestle*) dan ditambahkan 10 mL aseton 80%. Setelah itu larutan disaring dengan kertas *Whatmann* No. 1, dan dimasukkan kedalam flakon serta ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar(aseton 80%) diambil 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 sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Klorofil total} &= 17,3 \text{ }_{646} + 7,18 \text{ }_{663} \text{ mg/L} \\ \text{Klorofil a} &= 12,21 \text{ }_{663} - 2,81 \text{ }_{646} \text{ mg/L} \\ \text{Klorofil b} &= 20,13 \text{ }_{646} - 5,03 \text{ }_{663} \text{ mg/L (Harbourne, 1987).} \end{aligned}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Klorofil a

Kandungan klorofil a daun planlet *P. amabilis* yang di tanam pada medium VW dengan penambahan berbagai konsentrasi asam salisilat di sajikan pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa penambahan asam salisilat pada medium VW dengan berbagai konsentrasi berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil a daun planlet *P. amabilis*.

Uji BNT pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa kandungan klorofil a daun planlet *P. amabilis* pada konsentrasi asam salisilat 15, 30, 45 dan 60 ppm berbeda nyata terhadap kontrol.

Tabel 1. Perbandingan Kandungan Klorofil a pada Daun Planlet *P. amabilis*

Konsentrasi Asam Salisilat (ppm)	Kandungan Klorofil a mg/g Jaringan
0	0,242 ± 5,21858E-06 a
15	0,549 ± 6,09716E-06 b
30	0,581 ± 3,43414E-06 c
45	0,818 ± 6,19617E-06 d
60	1,022 ± 1,47101E-05 e

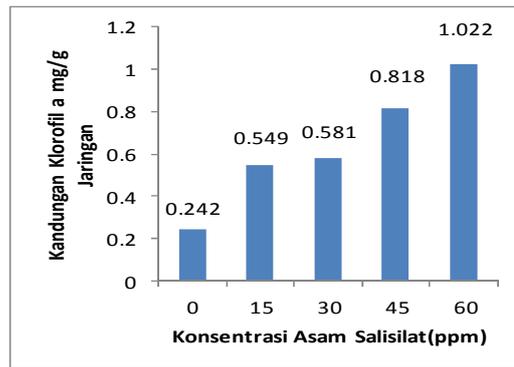
Keterangan : Klorofil a = $\bar{y} \pm SE$.

\bar{y} = nilai rata-rata kandungan klorofil a

SE = standar eror

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

Perbandingan kandungan klorofil a planlet *P. amabilis* yang di tanam pada medium VW dengan berbagai konsentrasi asam salisilat disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Batang Perbandingan Kandungan Klorofil a pada Daun Planlet *P. amabilis*

Kandungan Klorofil b

Kandungan klorofil b daun planlet *P. amabilis* yang di tanam pada medium VW dengan penambahan berbagai konsentrasi asam salisilat disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan Kandungan Klorofil b pada Daun Planlet *P. amabilis*

Konsentrasi Asam Salisilat(ppm)	Kandungan Klorofil b mg/g Jaringan
0	0,069 ± 3,40223E-05 a
15	0,399 ± 2,35575E-05 b
30	0,449 ± 9,37039E-06 c
45	0,746 ± 4,136E-06 d
60	0,834 ± 3,85727E-05 e

Keterangan : Klorofil a = $\bar{y} \pm SE$.

\bar{y} = nilai rata-rata kandungan klorofil a

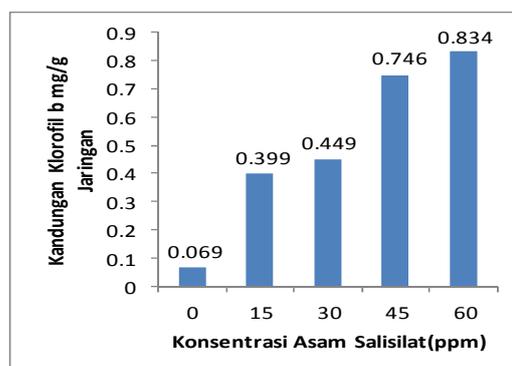
SE = standar eror

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa penambahan asam salisilat ke dalam medium VW berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil b daun planlet *P. amabilis*.

Uji BNT pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa konsentrasi asam salisilat berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil b. Kandungan klorofil b daun planlet *P. amabilis* pada medium VW yang mengandung asam salisilat konsentrasi 15, 30, 45, dan 60 ppm berbeda nyata dengan kontrol.

Perbandingan kandungan klorofil b planlet *P. amabilis* yang di tanam pada medium VW dengan berbagai konsentrasi asam salisilat disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Batang Perbandingan Kandungan Klorofil a pada Daun Planlet *P. amabilis*

Kandungan Klorofil total

Kandungan klorofil total daun planlet *P. amabilis* hasil seleksi dengan asam salisilat di sajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan Kandungan Klorofil Total pada Daun Planlet *P. amabilis*

Konsentrasi Asam Salisilat(ppm)	Kandungan Klorofil Total mg/g Jaringan
0	0,261 ± 3,18654E-05 a
15	0,948 ± 4,26975E-05 b
30	1,130 ± 9,01442E-06 c
45	1,156 ± 6,46898E-06 d
60	1,856 ± 8,90016E-06 e

Keterangan : Klorofil a = $\bar{y} \pm SE$.

\bar{y} = nilai rata-rata kandungan klorofil a

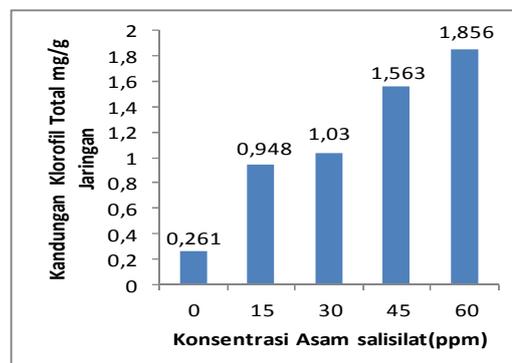
SE = standar eror

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

Berdasarkan Tabel 3 menunjukkan bahwa penambahan berbagai konsentrasi asam salisilat kedalam medium VW berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil total daun planlet *P. amabilis*.

Uji BNT pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa konsentrasi asam salisilat berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil total. Kandungan klorofil total daun planlet *P. amabilis* pada medium VW dengan penambahan asam salisilat dengan konsentrasi 15, 30, 45 dan 60 ppm berbeda nyata dengan kontrol.

Perbandingan kandungan klorofil total planlet *P. amabilis* yang di tanam pada medium VW dengan berbagai konsentrasi asam salisilat disajikan pada Gambar 3.



Gambar 2. Grafik Batang Perbandingan Kandungan Klorofil a pada Daun Planlet *P. amabilis*

Hasil penelitian diatas menunjukkan bahwa pengimbasan asam salisilat pada medium VW dengan konsentrasi 15, 30, 45 dan 60 ppm terjadi peningkatan kandungan klorofil a, b dan total. Hasil tersebut didukung dengan penelitian Nurcahyani(2013) tentang planlet vanili(*Vanilla planifolia* Andrews) yang diimbis dengan asam fusarat menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi asam fusarat maka kandungan klorofil pada daun planlet vanili tersebut semakin tinggi. Hal ini juga paralel dengan hasil penelitian yang diperoleh oleh Czerpak, *et al.*(2002) pada tanaman *Wolffia arrhiza*(Lemnaceae) yang ditumbuhkan pada air ledeng(kaya mineral tapi miskin dalam komponen organik), asam salisilat menyebabkan peningkatan kandungan klorofil a dan b serta karotenoid. Hal serupa juga dikemukakan oleh Radwan *et al.*(2012), yaitu pada tanaman jagung, penyemprotan daun jagung dengan asam salisilat tiga hari sebelum perlakuan herbisida kletodium meningkatkan fotosintesis, kandungan klorofil, dan karotenoid.

Anggarwulan dan Solichatun(2007) menyatakan bahwa terjadi peningkatan kandungan klorofil a, b dan total dengan peningkatan jarak tumbuhan dengan sumber polusi udara. Hal ini dapat diasumsikan bahwa

semakin dekat jarak dengan sumber kadar gas buangan kendaraan bermotor klorofil yang mengalami degradasi semakin besar; sehingga kadarnya menjadi semakin rendah.

Hasil-hasil penelitian diatas menunjukkan bahwa, tanaman yang tercemari bahan kimia baik sebagai pencemar negatif atau positif, maka akan memengaruhi pada kandungan klorofil.

KESIMPULAN

Konsentrasi asam salisilat 15, 30, 45 dan 60 ppm meningkatkan kandungan klorofil a,b, dan total planlet *P. Amabilis*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggarwulan. E dan Solochatun. 2007. Kajian Klorofil dan Karotenoid *Plantago major* L. dan *Phaseolus vulgaris* L. sebagai Bioindikator Kualitas Udara. *Biodiversitas Volume 8, Nomor 4 Halaman: 279-282*.
- Corina V. A., D. A. Dempsey, and D. F. Klessig. 2009. Salicylic Acid, a Multifaceted Hormone to Combat Disease. *Annu. Rev. Phythopathol* 47: 177-206.
- Czerpak, R., Dobrzyn,P., Krotke, A., and Kicinska, E. 2002. The Effect of Auxins and salicylic acid on chlorophyll and Carotenoid Contents in *Wolffia Arrhiza* (L.) Wimm(Lemnaceae) Growing on Media of Various Trophicities. *Polish Journal of Environmetal Studies*.
- Djatnika, I. 2012. Seleksi Bakteri Antagonis Untuk Mengendalikan Layu *Fusarium* pada Tanaman *Phalaenopsis*. *J. Hort.* 22(3):276-284,2012.
- Freeman S., A. Zveibel, H. Vintal and M. Maymon. 2002. Isolation of nonpatogenic mutants of *Fusarium oxysporum* f.sp. melonis for biological kontrol of *Fusarium* wilts in cucurbits. *Phytopathology* 92:164-168.
- Harbourne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Terjemahan:Padmawinata K & Sudiro I Penerbit ITB Bandung.
- Puspitaningtyas, D.M. dan S. Mursidawati. 2010. *Koleksi Anggrek Kebun Raya Bogor*. Vol. 1, No. 2 Bogor: UPT Balai Pengembangan Kebun Raya LIPI.
- Radwan, D.E.M, and Soltan D.M. 2012. The Negative Effects of Clethodim in Photosynthesis and Gas Exchange Status of Maize Plants are Ameliorated by Salicylic Acid Pretreatment. *Photosynthetica*.
- Rebbeca, L., B. Larson, and B.J. Jacobsen. 2007. Biocontrol elicited systemic resistance in sugarbeet is salicylic acid independent and NPR1 dependent. *J. Sugarbeet Res. Vol. 44 Nos. 1&2*.
- Semangun, H. 1989. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura Di Indonesia*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.