

## **Kandungan Klorofil Daun Planlet Anggrek Tanah (*Spathoglottis plicata* Blume.) Hasil Pengimbasan Ketahanan terhadap Asam Fusarat secara *In Vitro***

### ***Chlorophyll Content of Leaves of Plantlet Ground Orchid (*Spathoglottis plicata* Blume.) Results of Induced Resistance of The In Vitro Fusaric Acid***

**Christiana Eka Isharnani, 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, 35145  
E-mail : christianaekais8@gmail.com

#### ABSTRACT

*Spathoglottis plicata* cultivated have many constraints such as the appearance of fusarium wilt disease caused by *Fusarium oxysporum*. Planlet *S. plicata* to the *F. Oxysporum* were selected in the solid Vacin and Went (VW) medium was added with fusaric acid at concentrations of 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, and 40 ppm, compared with controls (0 ppm). The aim of this research was to know the content of chlorophyll a, b, and total of leaves of planlet *S. plicata*. The research was carried out in January to March 2015 in the Laboratory of Tissue Culture, Departement of Biology, Faculty of MIPA, Lampung University. This study used a completely randomized design with 5 replications. Data were analyzed with the variance (Anova) and if them different will be continued by LSD test performed at 5% significance level. Chlorophyll extraction and calculation method using Harbourne (1987) with the solvent used was 80% acetone. The absorbance was measured with a spectrophotometer (Shimudzu UV 800) at wavelength ( ) of 646 nm and 663 nm. The result showed that the content of chlorophyll a, b, and the total on the leaves planlet *S. plicata* has increased significantly on the concentration of the fusaric acid 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, and 40 ppm compared with controls. Increased of chlorophyll content showed that plantlet *S. plicata* was resistant to the fusaric acid and expected to be resistance to *F. oxysporum*.

*Key words: Spathoglottis plicata, Fusarium oxysporum, Fusaric acid, and Chlorophyll*

Diterima: 2 April 2015, disetujui 24 April 2015

## **PENDAHULUAN**

Anggrek merupakan tanaman hias yang sangat indah dan menarik karena bentuk, warna, dan ukuran bunga yang beragam. Selain itu, anggrek banyak disenangi dan disukai masyarakat luas karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi (Ramadiana *et al.*, 2008).

Pembudidayaan tanaman anggrek memiliki banyak kendala yang dihadapi seperti timbulnya penyakit dari jamur patogen, bakteri, ataupun virus yang menyerang bagian-bagian pada tubuh tanaman

anggrek (Djatnika, 2012). Beberapa penyakit pada tanaman anggrek yang disebabkan oleh jamur, bakteri, dan virus adalah busuk hitam, busuk akar, layu fusarium, busuk lunak, bercak daun, busuk daun, *Cymbidium mosaic*, dan bercak bercincin. Penyakit layu fusarium merupakan salah satu kendala dalam budidaya tanaman anggrek tanah. Penyakit ini disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* (Fo) yang dapat menyerang akar yang terluka (Pandjaitan, 2005)

Menurut Nurcahyani (2013), penggunaan varietas yang tahan (resisten) merupakan salah satu alternatif cara dalam pengendalian penyakit yang aman, efisien, dan efektif terhadap lingkungan. Seleksi ketahanan terhadap layu fusarium dapat dilakukan menggunakan filtrat dari kultur fusarium atau menggunakan racun murni fusarium yaitu Asam Fusarat (AF). Penggunaan asam fusarat pada seleksi *in vitro* banyak digunakan karena bersifat pathogenesis dan general terhadap tumbuhan sehingga bisa diaplikasikan untuk banyak tanaman. Penggunaan asam fusarat sebagai agen penyeleksi dalam seleksi *in vitro* dapat menghasilkan sel atau jaringan mutan yang insensitif terhadap asam fusarat, sehingga setelah diregenerasikan menjadi tanaman dapat menghasilkan galur yang resisten atau toleran terhadap infeksi patogen (Nurcahyani, 2013). Planlet anggrek yang tahan asam fusarat nantinya apabila diregenerasikan menjadi tanaman dapat diharapkan menghasilkan galur yang tahan terhadap infeksi *Fusarium oxysporum*, dengan demikian akan dapat meningkatkan kembali kualitas dan produksi tanaman anggrek di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan menganalisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet *Spathoglottis plicata* tahan asam fusarat secara *in vitro* meliputi kadar klorofil total, klorofil a, dan klorofil b.

## **BAHAN DAN METODE**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan bulan Maret 2015 di Laboratorium Botani (ruang penelitian *in vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Penelitian dilaksanakan dalam rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuan adalah penambahan asam fusarat ke dalam medium VW (Vacin and Went) dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol), 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm. Satuan percobaan adalah planlet *Spathoglottis plicata* 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 *Vacin and Went* (VW) padat dengan penambahan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh). Setelah medium dicairkan, kemudian medium disterilisasi selama 15 menit. Medium VW yang sudah disterilkan kemudian ditambah asam fusarat (AF) dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol), 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm.

#### **Penanaman planlet dalam medium seleksi asam fusarat**

Eksplan yang digunakan berupa planlet steril. Planlet-planlet dari botol kultur dikeluarkan dengan *scalpel* steril dan satu-persatu 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. Masing-masing konsentrasi dilakukan 6 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 3 eksplan *Spathoglottis plicata* dalam setiap botol kultur.

#### **Analisis Kandungan Klorofil.**

Bahan untuk analisis klorofil dengan menggunakan daun planlet *S.plicata* yang sudah diimbas dengan asam fusarat. Daun planlet *S. plicata* ditimbang 0,1 g kemudian digerus dengan mortar dan ditambahkan 10 mL aseton 80%, lalu disaring dengan kertas *Whatmann* No.1. Larutan sampel dan larutan standar (aseton 80%) diambil sebanyak 1 mL, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang (  $\lambda$  ) 646 nm dan 663 nm. Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan metode Harboure (1987):

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

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kandungan Klorofil a

Kandungan klorofil a daun planlet *Spathoglottis plicata* yang di tanam pada medium *Vacin & Went* (VW) dengan penambahan berbagai konsentrasi asam fusarat di sajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan klorofil a daun planlet *Spathoglottis plicata*

Konsentrasi Asam Fusarat (ppm b/v)	Kandungan Klorofil (Mg/g Jaringan)
0 (Kontrol)	0,195 ± 9,22675E-06 <sup>a</sup>
10	0,455 ± 1,01214E-05 <sup>b</sup>
20	0,480 ± 3,3915E-06 <sup>b</sup>
30	0,637 ± 2,92873E-05 <sup>c</sup>
40	0,896 ± 1,92873E-05 <sup>d</sup>

Keterangan :

Klorofil a =  $\bar{y} \pm SE$

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

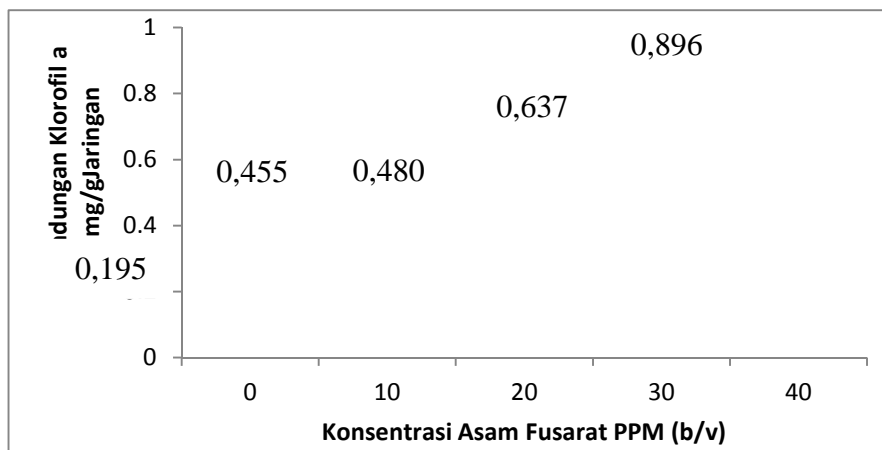
SE = standar eror

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%. BNT (0,05) = 0,118

Berdasarkan Tabel 1. menunjukkan bahwa penambahan asam fusarat pada medium VW dengan berbagai konsentrasi berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil a daun planlet *S. plicata*.

Uji BNT pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa kandungan klorofil a daun planlet *S. plicata* pada konsentrasi asam fusarat 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm berbeda nyata terhadap kontrol. Sementara kandungan klorofil a daun planlet *S. plicata* pada konsentrasi asam fusarat 10 ppm tidak berbeda nyata terhadap konsentrasi 20 ppm.

Perbandingan kandungan klorofil a planlet *S. plicata* yang di tanam pada medium VW dengan berbagai konsentrasi asam fusarat disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik batang perbandingan klorofil a planlet *Spathoglottis plicata*

Berdasarkan Gambar 1. menunjukkan bahwa kandungan klorofil a daun planlet *S. plicata* mengalami peningkatan pada konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm.

### Kandungan Klorofil b

Kandungan klorofil b planlet *Spathoglottis plicata* yang di tanam pada medium *Vacin & Went* (VW) dengan penambahan berbagai konsentrasi asam fusarat di sajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan klorofil b daun planlet *Spathoglottis plicata*

Konsentrasi Asam Fusarat (ppm b/v)	Kandungan Klorofil (Mg/g Jaringan)
0 (Kontrol)	0,044 ± 7,35309E-05 <sup>a</sup>
10	0,263 ± 0,00033 <sup>b</sup>
20	0,281 ± 0,00014 <sup>b</sup>
30	0,443 ± 1,27566E-05 <sup>c</sup>
40	0,513 ± 0,00016 <sup>d</sup>

Keterangan :

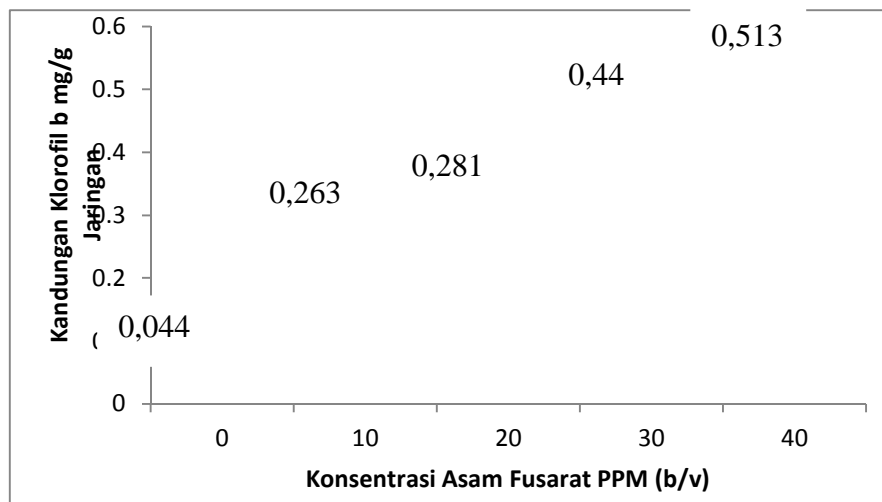
Klorofil a =  $\bar{y} \pm SE$

$\bar{y}$  = nilai rata-rata kandungan klorofil b

SE = standar eror

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%.BNT (0,05) = 0,038

Berdasarkan Tabel 2. menunjukkan bahwa penambahan asam fusarat ke dalam medium VW berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil b daun *S. plicata*. Uji BNT pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa kandungan klorofil b daun planlet *S. plicata* pada konsentrasi asam fusarat 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm berbeda nyata terhadap kontrol. Sementara kandungan klorofil b daun planlet *S. plicata* pada konsentrasi asam fusarat 10 ppm tidak berbeda nyata terhadap konsentrasi 20 ppm. Perubahan kandungan klorofil b planlet *S. plicata* yang ditanam pada medium VW dengan berbagai konsentrasi asam fusarat disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik batang perbandingan klorofil b planlet *Spathoglottis plicata*

### Kandungan Klorofil total

Kandungan klorofil total planlet *Spathoglottis plicata* yang di tanam pada medium *Vacin & Went* (VW) dengan penambahan berbagai konsentrasi asam fusarat di sajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan klorofil total daun planlet *Spathoglottis plicata*

Konsentrasi Asam Fusarat (ppm b/v)	Kandungan Klorofil (Mg/g Jaringan)
0 (Kontrol)	0,239 ± 6,63408E-05 <sup>a</sup>
10	0,719 ± 0,00023 <sup>b</sup>
20	0,762 ± 0,00019 <sup>c</sup>
30	1,080 ± 8,04296E-05 <sup>d</sup>
40	1,408 ± 8,67502E-05 <sup>e</sup>

Keterangan :

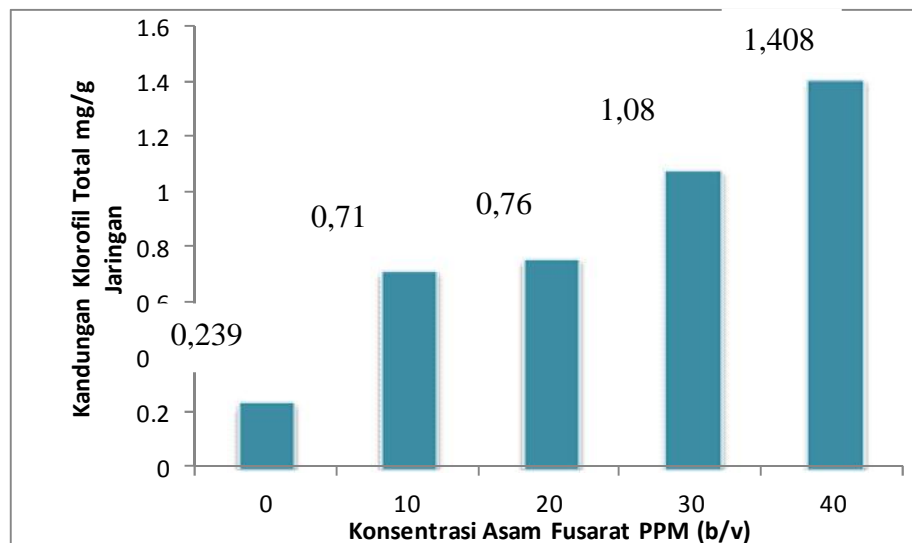
Klorofil a =  $\bar{y} \pm SE$

$\bar{y}$  = 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) = 0,036

Berdasarkan Tabel 3. menunjukkan bahwa penambahan asam fusarat ke dalam medium VW berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil total daun *S. plicata*. Uji BNT pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa kandungan klorofil total daun planlet *S. plicata* pada konsentrasi asam fusarat 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm berbeda nyata terhadap kontrol. Perbandingan kandungan klorofil total daun planlet *S. plicata* disajikan pada Gambar 3. Berdasarkan Gambar 3 terlihat bahwa kandungan klorofil total daun planlet *S. plicata* mengalami peningkatan pada konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm.



Gambar 3. Grafik batang perbandingan klorofil total planlet *Spathoglottis plicata*

## KESIMPULAN

Hasil dari pengimbasan asam fusarat pada konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm pada medium VW mampu meningkatkan kandungan klorofil a, b, dan total pada planlet *Spathoglottis plicata*. Secara signifikan, konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm memberikan pengaruh dalam peningkatan kandungan klorofil a, b, dan total dibandingkan dengan kontrol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abawi, G.S, & J.W. Lorbeer. 1972. Several aspects of the ecology and pathology of *Fusarium oxysporum* f. sp. cepae. *J. Phytopathol.* 62. Pp: 870-876.
- Baker, R & T C Paulitz. 1993. *Theoretical basic for microbial interaction leading to biological control of soil borne pathogen.* St Paul Minn. Pp: 50-70
- Bouizgarne B, El-Maarouf Bouteau H, Frankart C, Rebutier D, Madiona K, Pennarun AM, Monestiez M, Trouverie J, Amiar Z, Briand J, Brault M, Rona JP, Ouchdouch Y & El Hadrami I. 2006. Early physiological responses of *Arabidopsis thaliana* cells to fusaric acid: Toxic and Signalling effects. *New Phytologist* 169. Pp: 209-218.
- Djaenuddin N. 2003. Bioekologi dan Pengelolaan Penyakit Layu Fusarium: *Fusarium oxysporum*. Balai Penelitian Tanaman Serelia. Maros. Pp: 67-71.
- Fran, F., & N.B.,Cook. 1998. *Fundamental of Diagnostic Mycology.* WB Sanders Company. Philadelphia. 283 p.
- Hamza A, Derbalah A, & El-Nady M. 2012. Identification and Mechanism of *Echinochloa crus-galli* Resistance to Fenoxaprop-p-ethyl with respect to Physiological and Anatomical Differences. *Scientific World Journal.* 2012:1-8

- Harbourne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Terjemahan: Padmawinata K & Sudiro I. Penerbit ITB Bandung. pp: 259-261
- Landa BB, Cachinero-Diaz JM, Lemanceu P, Jimenez-Diaz RM & Alabouvette C. 2002. Effect of fusaric acid and phytoanticipans on growth of rhizobacteria and *Fusarium oxysporum*. *Canadia Journal of biology* 48: 971-985.
- Nurcahyani, E. 2013. Karakterisasi Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Hasil Seleksi In Vitro dengan Asam Fusarat Terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. *Desertasi*. (Tidak dipublikasikan).
- Panjaitan, E. 2005. Respons Pertumbuhan Tanaman Anggrek (*Dendrobium sp.*) terhadap Pemberian BAP dan NAA Secara *In Vitro*. *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian*. Vol.3. No. 3. Pp: 45-51.
- Ramadiana, S., A.P. Sari, Yusnita dan D. Hapsoro. 2008. Hibridisasi, Pengaruh Dua Jenis Media Dasar dan Pepton Terhadap Perkecambahan Biji dan Pertumbuhan Protokorm Anggrek *Dendrobium* Hibrida secara *In Vitro*. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II Universitas Lampung*. 17-18 Agustus.
- Salisbury FB, Ross WC . 1991 *Fisiologi tumbuhan*. Jilid 2. ITB. Bandung.
- Semangun, H. 2001. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. UGM Press. Yogyakarta. 754 p.
- Sukmadjaja D, Mariska I, Lestari EG, Tombe M & Kosmiatin M. 2003. Pengujian planlet abaka hasil seleksi terhadap *F. Oxysporum*. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor.