

ANALISIS LIGNIN DAN STRUKTUR ANATOMI PLANLET TOMAT (*Lycopersicum esculentum* MILL) HASIL SELEKSI ASAM SALISILAT SECARA *IN VITRO*

ANALYSIS OF LIGNIN AND ANATOMY STRUCTURE OF TOMATO PLANTLET (*Lycopersicum esculentum* MILL) RESULTS *IN VITRO* SALICYLIC ACID SELECTION

Endang Nurcahyani dan Lindawati
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung
Jl. Soemantri Brojonegoro No.1, Bandar Lampung, Lampung, Indonesia, 35145

Abstrak

Kajian tentang seleksi planlet tomat dengan asam salisilat konsentrasi 0, 15, 30, 45, dan 60 ppm secara *in vitro* terhadap struktur anatomi dan lignifikasi, telah dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung. Penelitian ini dilakukan dari bulan Juni sampai Agustus 2014. Data yang diperoleh selama seleksi dengan asam salisilat berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan di dukung foto. Dalam penelitian ini digunakan rancangan acak lengkap dengan 6 ulangan. Analisis ragam dan uji BNT dilakukan pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketebalan lignin pada xilem batang planlet tomat yang diimbasi asam salisilat pada konsentrasi 15, 30, dan 60 ppm menunjukkan ketebalan yang lebih besar dibandingkan kontrol, sedangkan pada konsentrasi 45 ppm ketebalannya lebih kecil dibandingkan kontrol. Struktur anatomi batang planlet tomat yang diimbasi asam salisilat dibandingkan dengan kontrol terdapat perbedaan pada bagian epidermis, jari-jari empulur, dan kambium. Pada epidermis, jari-jari empulur, dan kambium batang yang diimbasi asam salisilat mengalami lignifikasi.

Kata kunci: *planlet tomat, lignin, struktur anatomi, asam salisilat, in vitro.*

Abstract

Studies on the selection of tomato plantlets with salicylic acid concentrations of 0, 15, 30, 45, and 60 ppm *in vitro* against anatomical structures and analysis of lignin, has been carried out in the Tissue Culture Laboratory, Department of Biology, Faculty of Math and Sciences, University of Lampung. This research was conducted from June to August 2014. The data obtained during the selection with the salicylic acid in the form of quantitative and qualitative data. Qualitative data were presented in the form of comparative descriptive and supported the pictures. The study used a completely randomized design with six replications. Analysis of variance and LSD test was performed at 5% significance level. The results showed that the thickness of the lignin in the stem xylem tomato plantlets scanned salicylic acid at a concentration of 15, 30, and 60 ppm showed a greater thickness than control groups, whereas at concentrations of 45 ppm thickness was smaller than the control. Anatomical structures stem of tomato plantlets were scanned salicylic acid compared with controls indicated some differences in the epidermis, the radius of the pith, and cambium. In the epidermis, the radius of the stem cambium pith and salicylic acid scanned underwent lignification (lignified).

Keywords: *tomato plantlets, lignin, anatomical structure, salicylic acid, in vitro.*

PENDAHULUAN

Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi dan masih memerlukan penanganan yang serius dalam hal untuk meningkatkan hasil dan kualitas buah tomat. Produksi tomat di Indonesia rata-rata masih rendah, yaitu 6,3 ton/ha apabila dibandingkan dengan negara-negara seperti Taiwan, Saudi Arabia, dan India

dengan hasil produksinya adalah 21 ton/ha, 13,4 ton/ha, dan 9,5 ton/ha. Salah satu kendala dari rendahnya produksi tomat yang ada di Indonesia adalah pemberantasan penyakit yang kurang efisien terhadap infeksi mikroba patogen penyebab penyakit (Wasonowati, 2011). Mikroba patogen yang sering menyerang tanaman tomat adalah *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol). Fol dapat menghambat pertumbuhan suatu

tanaman, sehingga perlu adanya pencegahan (Soesanto dan Rahayuniati, 2009).

Salah satu alternatif cara pengendalian penyakit yang efisien, efektif, dan aman terhadap lingkungan, antara lain menggunakan varietas yang tahan atau resisten. Penggunaan varietas unggul yang tahan terhadap penyakit dengan daya hasil tinggi merupakan salah satu alternatif pengendalian penyakit yang penting dan tidak menimbulkan dampak negatif seperti penggunaan pestisida (Nurchayani *et al.*, 2012). Pengembangan kultivar tahan *Fol* tersebut dapat dilakukan antara lain dengan metode seleksi *in vitro* yaitu mengkulturkan eksplan berupa jaringan atau organ pada medium yang mengandung asam salisilat konsentrasi selektif (Suryanti, *et al.*, 2009).

Asam salisilat (AS) merupakan signal penting dalam ketahanan tanaman, digunakan sebagai senyawa pengimbas ketahanan terhadap penyakit layu *Fusarium* pada tanaman pisang (Suryanti, *et al.*, 2009), melon (Sujatmiko *et al.*, 2012), jagung (Hoerussalam *et al.*, 2013). Ketahanan terimbas merupakan ketahanan yang tereksresi setelah patogen menyerang (Huang, 2001). Beberapa parameter dapat menggambarkan terjadinya mekanisme ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen antara lain peningkatan senyawa fenol, peningkatan enzim peroksidase termasuk kelompok *Pathogenesis Related-protein* (PR-protein), dan adanya lignifikasi (Vidhyasekaran, 1997; Agrawal *et al.*, 1999; Lea & Leegood, 1999).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui dan menganalisis karakter ekspresi spesifik planlet tomat tahan asam salisilat secara *in vitro* meliputi lignifikasi dan struktur anatominya. Planlet tomat yang tahan asam salisilat nantinya apabila diregenerasikan menjadi tanaman dapat menghasilkan galur yang tahan terhadap infeksi *Fol*, dengan demikian diharapkan akan dapat meningkatkan kembali kualitas dan produksi tanaman tomat di Indonesia.

BAHAN dan METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung dari bulan Juni sampai Agustus 2014.

Persiapan medium tanam dan seleksi.

Medium yang digunakan adalah *Murashige & Skoog* (MS) padat dengan penambahan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) BAP 1 mg/L. Sterilisasi

medium dengan menggunakan autoklaf pada tekanan 17,5 psi, 121 °C selama 15 menit. Medium MS yang sudah disterilkan kemudian ditambah asam salisilat (AS) dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol), 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, dan 60 ppm. Sebelum digunakan, medium ini di inkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar (25 °C) untuk memastikan bahwa asam salisilat telah tersaring dengan baik. Apabila dalam waktu 7 hari tidak terjadi kontaminasi pada medium, maka medium dapat digunakan.

Sterilisasi benih tomat yang akan ditanam

Benih tomat dicuci dengan aquades dan dikocok, lalu dimasukkan ke dalam larutan *chlorox* 10% dikocok selama 10 menit. Benih dibilas dengan aquades. Benih kemudian ditanam pada medium MS yang sudah ditambah asam salisilat dan BAP. Penanaman benih dilakukan di dalam LAF *Cabinet*. Setiap botol kultur ditanami 3 benih, sehingga total benih yang ditanam sebanyak 150 dalam 50 botol kultur. Benih-benih tomat tersebut dikecambahkan pada medium MS sampai terbentuk planlet. Inkubasi kultur dilakukan pada ruangan dengan penyinaran ± 1000 lux, 24 jam/hari dan suhu ± 20 °C.

Analisis lignin

Pengamatan lignifikasi pada irisan melintang batang planlet tomat menggunakan metode Ruzin (1999). Planlet tomat dicabut kemudian batangnya dibersihkan dari sisa agar. Batang yang sudah bersih difiksasi dengan cara direndam dalam FAA dan disimpan selama 24 jam. Batang selanjutnya dijepit dibagian tengah gabus, dan diiris dengan *sliding microtom* secara melintang dengan ketebalan 5-10 µm. Potongan irisan melintang direndam dalam safranin encer (1% w/v) selama 1,5 jam, kemudian dibilas dengan aquades. Potongan batang yang telah dibilas direndam dalam larutan alkohol konsentrasi 70% selama 2-5 menit kemudian direndam dalam safranin dan dikering-anginkan. Sesudah kering, potongan batang diletakkan di atas gelas preparat dan ditutup dengan gelas penutup. Selanjutnya gelas preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Jaringan batang yang terlignifikasi akan tampak berwarna merah muda. Pengaruh asam salisilat, selanjutnya dideteksi efeknya antara lain melalui pengukuran ketebalan lignin pada dinding xilem. Pengukuran ketebalan lignin dengan menggunakan mikrometer okuler.

Analisis anatomi jaringan batang

Pembuatan preparat awetan penampang melintang batang planlet tomat menurut Ruzin (1999). Batang planlet tomat difiksasi menggunakan larutan alkohol 70%. Setelah itu

dilakukan pengirisan melintang batang dengan menggunakan *sliding microtom*, ketebalan 20-30 mikrometer. Irisan ditampung dalam *Petridish* yang diberi alkohol 70%. Lalu dilanjutkan pewarnaan dengan safranin 1% dan di bilas menggunakan akuades, kemudian ditambahkan anilin blue dalam alkohol 70% selama 24 jam. Kemudian preparat diletakkan di atas gelas benda, ditutup dengan gelas penutup yang sebelumnya diberi balsam kanada. Preparat dikeringkan di atas *hot plate* dengan suhu 45 °C hingga balsam kanada mengering. Terakhir dilakukan pemberian nama disebelah kiri gelas penutup dengan melekatkan etiket yang diberi keterangan nama spesies.

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Penelitian dilaksanakan dalam rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuan adalah penambahan asam salisilat ke dalam medium MS (*Murashige & Skoog*) dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol), 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, dan 60 ppm. Satuan percobaan adalah planlet tomat yang ditanam pada medium MS. Data yang diperoleh selama seleksi dengan AS berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan didukung foto. Data kuantitatif dari setiap parameter dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam (*Analysis of Variance*) atau Anova. Analisis ragam atau anova dilakukan pada taraf nyata 5% dan uji lanjut dengan uji BNT pada taraf nyata 5%.

HASIL dan PEMBAHASAN

A. Lignifikasi

Parameter yang dapat menunjukkan terjadinya mekanisme ketahanan planlet tomat hasil pengimbasan asam salisilat adalah terjadinya lignifikasi pada jaringan berkas pengangkut. Penambahan tebal lignin pada dinding xilem telah di amati pada batang planlet tomat yang di imbas asam salisilat (konsentrasi 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, dan 60 ppm) dan kontrol. Menurut Bouizgarne *et al.*, (2006), pembentukan lignin melibatkan peran enzim peroksidase. Peroksida merupakan pendonor enzim peroksidase untuk pembentukan lignin. Peroksida yang meningkat akan meningkatkan pula aktivitas enzim peroksidase yang berperan dalam pembentukan lignin.

Berdasarkan pengamatan, lignin terbentuk hampir pada semua perlakuan, oleh karena itu pengaruh perlakuan cekaman asam salisilat bisa dideteksi efeknya melalui pengukuran ketebalan lignin pada dinding xilem (Tabel 1).

Tabel 1. Rata-rata ketebalan lignin (μm) pada xilem planlet tomat yang tidak diimbas (kontrol) dan diimbas asam salisilat (15, 30, 45, dan 60 ppm).

Perlakuan	Rata-rata ketebalan lignin (μm)
0 ppm	3,33 \pm 0.210 ^a
15 ppm	4,16 \pm 0.166 ^b
30 ppm	4,00 \pm 0.258 ^b
45 ppm	2,50 \pm 0.255 ^c
60 ppm	4,66 \pm 0.333 ^b

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

Tabel 1 menunjukkan adanya peningkatan ketebalan lignin pada dinding sel xilem pada perlakuan 15 ppm, 30 ppm dan 60 ppm dibandingkan kontrol, sedangkan pada konsentrasi 45 ppm mengalami penurunan dibandingkan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa planlet memberi tanggapan ketahanan melalui penambahan tebal lignin setelah diperlakukan dengan asam salisilat. Sistem ketahanan tanaman tergantung pada interaksi inang, patogen, dan lingkungan.

Lignifikasi yang terjadi pada dinding epidermis akar pada penelitian ini didukung oleh penelitian De Ascensao & Dubery (2000), yang mengutarakan bahwa lignifikasi terjadi pada dinding sel epidermis akar pisang yang diinfeksi *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Selain itu He *et al.*, (2002), mengemukakan bahwa kandungan lignin akar *Asparagus officinalis* yang resisten mengalami peningkatan setelah di inokulasi dengan *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi*. Hammerschmidt & Dann (1985) menyatakan pula bahwa pada dinding sel epidermis daun mentimun (*Cucumis sativus* L.), melon (*Cucumis melo* L.) dan semangka (*Citrullus vulgaris* Schrad) terjadi lignifikasi setelah diinokulasi dengan spora jamur *Colletotrichum lagenarium* (Pass).

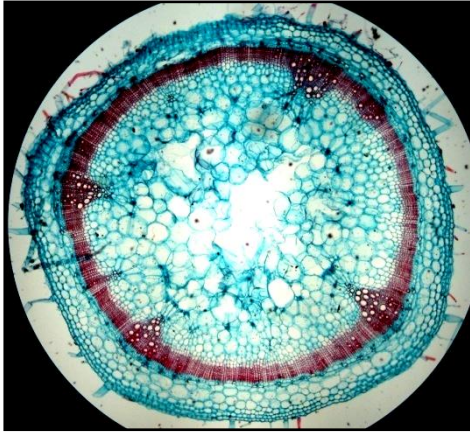
B. Analisis Anatomi Jaringan Batang

Analisis anatomi jaringan batang dilakukan dengan mengamati perbedaan anatomi batang planlet tomat yang tahan terhadap pengimbasan asam salisilat dan kontrol. Berdasarkan pengamatan, struktur anatomi batang planlet tomat pada umumnya tersusun atas epidermis, korteks dan stele (berkas vaskuler dan empulur). Berdasarkan pengamatan, struktur anatomi batang planlet tomat tersusun atas epidermis, korteks, floem, kambium, jari-jari empulur, xilem, dan empulur. Hasil pengamatan epidermis batang terdiri atas selapis sel dan tersusun rapat tanpa adanya ruang antar sel. Pada planlet tomat tahan asam salisilat, dinding sel epidermis lebih tebal dari

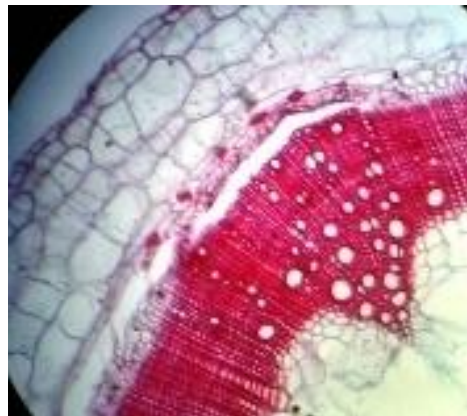
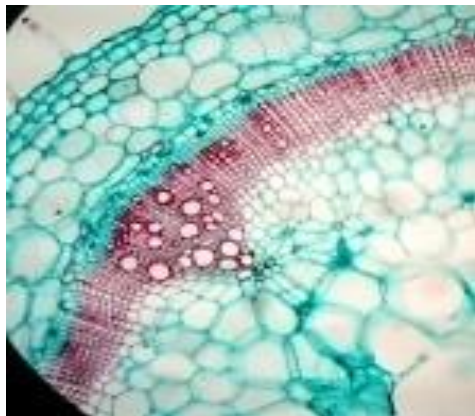
pada kontrol, demikian pula pada jari-jari empulur dan kambiumnya (Gambar 1).

Menurut Bouizgarne *et al.* (2006) penambahan asam salisilat pada konsentrasi non-toksik mengakibatkan peningkatan dan pengaktifan O₂ dan H₂O₂. Aktivitas H₂O₂ berhubungan dengan peroksidase dalam pembentukan lignin. H₂O₂

merupakan pendonor peroksidase untuk pembentukan lignin. Penampang melintang anatomi batang tomat, memperlihatkan struktur umum penyusun batang tomat dan penebalan epidermis, jari-jari empulur serta kambium disajikan pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Penampang melintang anatomi batang planlet tomat, memperlihatkan struktur umum penyusun batang planlet. (kanan) Konsentrasi asam salisilat 0 ppm, (kiri) konsentrasi asam salisilat 60 ppm. (Ep) epidermis, (em) empulur, (Fl) Floem, (JE) jari-jari empulur, (kor) korteks, (kb) kambium, (xy) xylem.



Gambar 2. Penampang melintang anatomi batang planlet tomat yang menunjukkan penebalan epidermis, jari-jari empulur dan kambium. A. berkas pengangkut konsentrasi 0 ppm, B. berkas pengangkut konsentrasi 60 ppm. (Ep) epidermis, (kb) kambium, (JE) jari-jari empulur.

KESIMPULAN

- Lignin yang terdapat pada xilem batang planlet tomat yang diimbasi asam salisilat pada konsentrasi 15, 30, dan 60 ppm menunjukkan ketebalan yang lebih besar dibandingkan kontrol.
- Analisis anatomi batang planlet tomat yang diimbasi asam salisilat dengan batang planlet tomat yang tidak diimbasi terdapat perbedaan pada bagian epidermis, jari-jari empulur, dan kambium. Pada epidermis, jari-jari empulur dan kambium batang yang diimbasi asam salisilat mengalami penebalan dibandingkan kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, A.A., S. Tuzun, S., and E. Bent. 1999. *Induced Plant Defenses Against Pathogens and Herbivores, Biochemistry, Ecology, and Agriculture*. APS Press, St. Paul. Minnesota. 390p.
- Bouizgarne, B, HEM. Bouteau, C. Frankart, D. Rebutier, K. Madiona, AM. Pennarun, M. Monestiez, J. Trouverie, Z. Amiar, J. Briand, M. Brault, JP. Rona, Y. Ouhdouch, and EI. Hadrami. 2006. Early Physiological Responses of *Arabidopsis thaliana* Cells to Fusaric Acid : Toxic and Signalling Effects. *New Phytologist* 169: 209 – 218.

- De Ascensao, A. R. D. C. F., and I.A. Dubery. 2000. Panama disease: Cell wall reinforcement in banana roots in response to elicitors from *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race fuor. *Phytopathology* 90:1173-1180.
- Hammerschmidt, R. & E.K. Dann. 2000. Induced Resistance to Disease. Environmentally Safe Approach to Crop Disease Control. Chapter 8. *Lewis Publishers, Boca Raton*. 177-194.
- He CY, T. Hsiang, and DJ. Wolyn. 2002. Induction of Systemic Disease Resistance and Pathogen Defence Responses in *Asparagus officinalis* Inoculated with Pathogenic Strains of *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathology* 51: 225-230
- Hoerussalam, A. Purwantoro, dan A. Khaeruni. 2013. Induksi Ketahanan Tanaman Jagung (*Zea Mays* L.) Terhadap Penyakit Bulai Melalui Seed Treatment Serta Pewarisannya Pada Generasi S1. *Ilmu Pertanian* Vol. 16 : 42 – 59.
- Huang, J.S. 2001. *Plant Patogenesis and Resistance, Biochemisrty and Physiology of Plant-Microbe Interactions*. Kluwer Academic Publisher. Dordrecht.
- Lea, P. and R.C. Leegood. 1999. *Plant Biochemistry and moleculer Biology*. 2nd ed. John Wiley & Sons Ltd. Chichester. 364 p.
- Nurcahyani E, I. Sumardi, B. Hadisutrisno, dan E. Suharyanto. 2012. Penekanan Perkembangan Penyakit Busuk Batang Vanili (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*) Melalui Seleksi Asam Fusarat Secara *In Vitro*. *J. HPT Tropika* Vol.12 No.1: 12-22.
- Soesanto, L dan R.F. Rahayuniati. 2009. Pengimbasan Ketahanan Bibit Pisang Ambon Terhadap Penyakit Layu Fusarium dengan Beberapa Jamur Antagonis. *J.HPT Tropika*. Vol 9. No 2; pp 130-140.
- Sujatmiko, B., E. Sulistyaningsih, dan H.R. Murti. 2012. Studi Ketahanan Melon (*Cucumis Melo* L) Terhadap Layu Fusarium Secara *In-Vitro* dan Kaitannya Dengan Asam Salisilat. *Ilmu Pertanian* Vol. 15 pp 1 -18.
- Suryanti, Y.D. Chinta, dan D. Sumardiyono. 2009. Pengimbasan Ketahanan Pisang Terhadap Penyakit Layu Fusarium Dengan Asam Salisilat *In Vitro*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 15(2):pp 90–95.
- Vidhyasekaran, P. 1997. *Fungal Pathogenesis in Plants and Crops, Molecular Biology and Host Defense Mechanism*. Marcell Dekker. New York. 553p.
- Wasonowati, C. 2011. Meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill) dengan sistem budidaya hidroponik. *Agrovigor* volume 4. pp 21-28.