

ANALISIS KARBOHIDRAT TERLARUT TOTAL PLANLET BAYAM MERAH (*Alternanthera amoena* Voss) TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN SETELAH PEMBERIAN *POLY ETHYLEN GLYCOL* (PEG) 6000 SECARA *IN VITRO*

Maura Triska Febriana, Endang Nurcahyani, Mahfut, Tundjung T. Handayani
Jalan Prof. Dr. Soemantri Brodjonegoro No.1 Bandar Lampung, Indonesia 35145
Program Studi Biologi Murni, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung
Email: endang.nurcahyani@fmipa.unila.ac.id

ABSTRAK

Bayam merah (*Alternanthera amoena* Voss) merupakan salah satu jenis bayam yang dibudidayakan dan dikonsumsi masyarakat luas. Jenis bayam ini mempunyai nilai ekonomis tinggi dibandingkan dengan jenis bayam lainnya, disebabkan permintaannya yang cukup tinggi dan perawatan dalam budidaya bayam merah masih menjadi kendala adalah kekeringan yang berkepanjangan. Salah satu pengendalian yang efektif dalam mencegah cekaman kekeringan adalah dengan meningkatkan ketahanan tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek kisaran konsentrasi *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 yang tahan cekaman kekeringan terhadap pertumbuhan planlet bayam merah (*Alternanthera amoena* Voss) secara *in vitro* dan untuk mengetahui karakter ekspresi yang spesifik pada planlet bayam merah dengan berbagai konsentrasi setelah pemberian PEG 6000 meliputi kandungan karbohidrat dalam kondisi cekaman kekeringan secara *in vitro*. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan November 2019 sampai dengan Desember 2019 di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Perlakuan disusun dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), yaitu induksi PEG 6000 dengan 5 taraf konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan dibandingkan dengan kontrol 0% dengan 4 kali ulangan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan analisis *one way* ANOVA pada taraf nyata 5% dan uji lanjut dengan Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pemberian PEG 6000 kisaran konsentrasi yang tahan pada planlet bayam merah (*Alternanthera amoena* Voss) terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro* adalah 10%-40%. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan terjadi peningkatan kandungan karbohidrat terlarut total pada planlet bayam merah seiring dengan peningkatan konsentrasi PEG 6000.

Kata kunci: bayam merah (*Alternanthera amoena* Voss), cekaman kekeringan, *in vitro*, *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000

Red spinach (*Alternanthera amoena* Voss) is one type of spinach that is cultivated and consumed by the wider community. This type of spinach has a high economic value compared to other types of spinach, due to the high demand and care in the cultivation of red spinach is still an obstacle is a prolonged drought. One effective control in preventing drought stress is to increase plant resistance. This study aims to determine the effect of a range of concentrations of Poly Ethylene Glycol (PEG) 6000 which is resistant to drought stress on the growth of red spinach plantlets (*Alternanthera amoena* Voss) in vitro and to determine the specific expression characteristics of red spinach plantlets with various concentrations after administration of PEG 6000 include carbohydrate content in conditions of drought stress in vitro. This research was conducted from November 2019 to December 2019 at the Tissue Culture Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung. The treatment was arranged with a Completely Randomized Design (CRD), ie induction of PEG 6000 with 5 levels of concentration of 10%, 20%, 30%, 40% and compared with 0% control with 4 replications. The data obtained were then analyzed using one way ANOVA analysis at 5% significance level and further tests with the Least Significant Difference (LSD) at 5% significance level.

The results showed that in the administration of PEG 6000 the concentration range that was resistant to the red spinach plantlet (*Alternanthera amoena* Voss) against drought stress in vitro was 10% -40%. Based on the results of the study it can be concluded an increase in the total dissolved carbohydrate content in the red spinach plantlet along with an increase in the concentration of PEG 6000.

Keywords: red spinach (*Alternanthera amoena* Voss), drought stress, in vitro, Poly Ethylene Glycol (PEG) 6000

PENDAHULUAN

Bayam merah salah satu jenis tumbuhan hortikultural yang dibudidayakan dan dikonsumsi masyarakat luas. Jenis bayam ini memiliki nilai ekonomis yang tinggi dibandingkan jenis bayam lainnya sehingga permintaannya yang cukup tinggi (Setiawati dkk., 2018). Bayam merah merupakan jenis bayam yang diminati dan memiliki nilai jual yang lebih tinggi dengan bayam hijau (Adelia dkk., 2013).

Bayam merah (*Alternanthera amoena* Voss) merupakan tanaman sayuran yang berasal dari daerah Amerika beriklim tropis namun tersebar ke seluruh dunia. Bayam merah semula dikenal sebagai tanaman hias, namun dalam perkembangan selanjutnya dipromosikan sebagai sayuran sumber protein, vitamin A, B, C, serta mengandung garam-garam mineral seperti kalsium, fosfor, dan besi (Nirmalayanti dkk., 2017). Keberadaan bayam merah sebagai salah

satu sayuran sangat dibutuhkan dalam penyempurnaan gizi masyarakat yang sangat dibutuhkan oleh tubuh manusia (Utami, 2016).

Mengingat bayam mempunyai banyak manfaat, baik sebagai bahan pangan dengan kandungan nutrisi tinggi maupun khasiatnya dalam mengobati beberapa penyakit sehingga mempunyai peran penting dalam mendukung kesehatan masyarakat, maka pertumbuhan dan produksinya perlu ditingkatkan (Setiawati dkk., 2018). Iklim di Indonesia berbeda dengan negara lain karena musim kemarau dampak dari perubahan iklim bukan berarti tidak ada hujan sama sekali. diprediksikan beberapa daerah masih berpeluang mendapatkan curah hujan, namun curah hujannya berada pada kategori rendah (Litbang, 2019).

Surmaini and Faqih (2016) menyatakan iklim ekstrim yang paling besar pengaruhnya terhadap pertanian di Indonesia ialah kejadian El-Niño dan La-Niña. Musim kemarau menyebabkan penurunan curah hujan yang menyebabkan kekeringan dan pada tahun musim hujan terjadi peningkatan curah hujan yang memicu terjadinya banjir. Siklus El-Niño memberikan dampak yang lebih signifikan terhadap produksi tanaman pangan. Salah satu cara alternatif yang efektif dan efisien untuk mengatasi cekaman kekeringan pada tanaman yaitu dengan menggunakan varietas yang tahan terhadap kekeringan.

Cara untuk mendapatkan bibit yang baik dapat dengan menggunakan teknik *in vitro*. Seleksi cekaman kekeringan pada teknik *In vitro* dapat dilakukan dengan cara pemberian agens penyeleksi ke dalam medium tanam (Muliani dkk., 2014). Selain dengan cara konvensional, benih tersebut dapat diperoleh dengan kultur jaringan disertai dengan pengujian patogen secara intensif dan dilanjutkan dengan teknik perbanyakann cepat secara *in vitro* (Priscila, 2017).

Poly Ethylene Glycol (PEG) solusi dapat digunakan sebagai agen memilih *drought olerant* kedelai dan tanaman lainnya (Saepudin dkk., 2017). PEG yang ditambahkan pada

medium padat digunakan untuk menciptakan kondisi cekaman kekeringan karena senyawa ini dapat menurunkan potensial air pada medium diberbagai percobaan kultur jaringan (Zulhilmi dkk., 2012).

Sejauh ini belum ada penelitian tentang kajian efek *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 terhadap pertumbuhan planlet bayam merah (*Alternanthera amoena* Voss) dalam kondisi cekaman kekeringan secara *in vitro*, sehingga penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui konsentrasi PEG 6000 yang toleran terhadap tanaman bayam merah terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.

METODE

Alat dan Bahan

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *autoclave*, *Beaker glass* berukuran 1000 ml, botol kultur, cawan petri, gelas ukur berukuran 100 ml, Erlenmeyer berukuran 50 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tip, aluminium foil, corong gelas, timbangan analitik, kuvet, gunting, pipet ukur, corong mortar dan penumbuk, tabung reaksi dan rak tabung reaksi mortar, *pestle*, kertas filter *Whatman* no. 1, kertas label, timbangan analitik, spektrofotometer (*Shimudzu UV 800*), *Laminar Air Flow* (LAF) ESCO.

Bahan-bahan yang digunakan adalah benih bayam merah (*Alternanthera amoena* Voss) dari varietas Mira dengan merek dagang cap Panah Merah, akuades steril, alkohol 96%, agar, sukrosa, serta bahan kimia *Asam Klorida* (HCL), Bayclin, *Kalium Hidroksida* (KOH), medium *Murashige and Skoog* (MS) padat, *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000. Bahan untuk analisis karbohidrat terlarut yaitu asam sulfat (H₂SO₄) dan fenol.

Prosedur

Pembuatan medium tanam MS sebanyak 1 liter adalah dengan cara memipet sejumlah larutan stok, kemudian dimasukkan kedalam labu takar 1 liter. Ditambahkan akuades sampai tanda (1 liter) dan pH diatur sampai 5,5. Larutan yang belum mendapatkan pH 5,5, perlunya penambahan KOH 1 N dan HCL 1 N. Larutan dipindahkan ke dalam wadah yang lebih besar kemudian ditambahkan agar-agar sebanyak 7 g/L dan sukrosa 30 g/L. Lalu dipanaskan dan aduk larutan medium hingga mendidih, kemudian dituangkan sebanyak 20 ml ke botol kultur. Sterilisasi medium dengan dimasukkan ke dalam *autoclave* pada suhu 121°C, selama 15 menit. Planlet berupa benih bayam merah yang direndam dalam akuades steril selama 5 menit. Setelah itu benih direndam dengan bayclin 10% selama 2-3 menit (Ashari dkk., 2018). Kemudian benih dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali pengulangan. Sterilisasi ini dilakukan didalam LAFC.

Persiapan medium seleksi dengan menambahkan larutan PEG 6000 dengan konsentrasi 0%, 10%, 20%, 30%, dan 40% pada masing-masing botol kultur sebanyak 1 ml kedalam medium MS. Benih yang telah steril diletakkan ke dalam cawan petri. Setelah itu didalam medium MS. Penanaman benih dilakukan di dalam LAFC. Setiap botol kultur ditanami 10 benih dalam 20 botol kultur. Benih bayam merah tersebut ditumbuhkan menjadi planlet. Inkubasi kultur dilakukan pada ruang inkubasi.

Melakukan analisis kandungan karbohidrat terlarut total dengan metode fenolsulfur (Dubois, 1956). Planlet bayam merah ditimbang sebanyak 0,1 gram, ditumbuk dengan mortar dan *pestle* diberi akuades sebanyak 10 ml, disaring dengan kertas saring *Whatman* no. 1 lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Filtrat diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan 1 ml H₂SO₄, kemudian ditambahkan fenol sebanyak 2 ml. Kemudian filtrat dimasukkan ke dalam kuvet dan dibaca pada panjang gelombang 490 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Tunas

Hasil uji homogenitas ragam menggunakan uji Levene yang di berikan PEG 6000 dengan berbagai konsentrasi disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1.Rata-rata jumlah tunas bayam merah

Konsentrasi PEG (%)	Rata-rata jumlah tunas minggu ke-3
0	0.750 ± 0.144 ^a
10	0.375 ± 0.239 ^a
20	0.250 ± 0.250 ^a
30	0.125 ± 0.125 ^a
40	0.125 ± 0.125 ^a

Keterangan :

Jumlah tunas = $\bar{Y} \pm SE$

\bar{Y} = Nilai rata-rata jumlah tunas

SE = *Standar error*

Kelembaban stres di pertumbuhan kritis tahap pada gandum seperti perkecambahan, bibit pendirian, anakan atau tunas dan tahap reproduksi mungkin akibat dari penurunan hasil untuk mematikan tanaman (Farooq *et al.*, 2011).

Hal ini sesuai penelitian (Susetio dkk., 2019) pengamatan jumlah daun dan tunas tidak memberikan pengaruh nyata dari cekaman 0%, 5% dan 10%. PEG 0% dan 10% terjadi penurunan pertumbuhan jumlah daun dan jumlah anakan atau tunas. Kalus dewasa yang masih hidup pada medium PEG 20% diinkubasi dalam media regenerasi untuk calon tunas dan akar (Sunaryo *et al.*, 2016).

Kandungan karbohidrat merupakan parameter yang digunakan dalam analisis dasar biosains. Dalam analisis kandungan karbohidrat terdapat berbagai metode. Metode yang mudah dan akurat dalam pengukuran gula murni pada oligosakarida, proteoglikan, glikoprotein dan glikolipid adalah metode fenolsulfur. Kandungan karbohidrat terlarut membantu tumbuhan dalam mempertahankan kehidupan pada kondisi cekaman (Masuko *et al.*, 2005). Ketika mengalami cekaman kekeringan hasil fotosintesis mengalami penurunan, saat hasil produksi tidak lagi mencukupi maka pemecahan molekul karbohidrat terlarut dapat digunakan untuk mempertahankan proses metabolisme (Zhang *et al.*, 2010).

Konsentrasi PEG (%)	Rata-rata kandungan karbohidrat terlarut (mg/g)
0	0.152 ± 0.019602 ^b
10	0.307 ± 0.031161 ^{ab}
20	0.334 ± 0.025791 ^a
30	0.388 ± 0.075522 ^a
40	0.440 ± 0.078910 ^a

Keterangan:

Karbohidrat = $\bar{Y} \pm SE$

\bar{Y} = Nilai rata-rata kandungan karbohidrat

SE = *Standar error*

Analisis ragam menunjukkan bahwa pemberian PEG 6000 dengan konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40% dengan control (0%) memberikan pengaruh nyata terhadap kandungan karbohidrat terlarut total planlet bayam merah.

Kandungan karbohidrat terlarut total pada tanaman akan meningkat seiring dengan meningkatnya kadar konsentrasi PEG yang ditambahkan pada medium tanam. Tanaman yang mengalami cekaman kekeringan terjadi penurunan zat tepung dan peningkatan kadar gula (Rosyalina dkk., 2018).

Karbohidrat terlarut total digunakan sebagai salah satu parameter untuk mengetahui ketahanan planlet buncis terhadap kondisi cekaman kekeringan. Peningkatan kandungan karbohidrat terlarut ini terjadi pada tanaman dalam upaya mempertahankan dari kondisi cekaman kekeringan (Nurcahyani dkk., 2019).

Mafakheri (2010) bahwa tanaman yang mengalami kondisi cekaman kekeringan akan meningkatkan kandungan karbohidrat terlarut total. Bidabadi *et al.* (2012) menemukan bahwa 30 g L⁻¹ PEG adalah konsentrasi yang cukup untuk memilih dan ciri *in vitro* toleran kekeringan kultivar pisang. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Sari (2019) menyatakan bahwa pemberian asam fusarat pada planlet cassava mampu meningkatkan kandungan karbohidrat terlarut total dengan kontrol.

Khadimi *et al.*, (2016) Pada kandungan karbohidrat konsentrasi PEG 10% dan 20% terjadi peningkatan signifikan. Peningkatan ini dapat dijelaskan oleh dekomposisi beberapa gula menjadi gula unilateral dan bilateral dalam kasus kekurangan air. Sel tumbuhan dapat memanfaatkan sejumlah besar energi, termasuk karbohidrat, untuk mentolerir stress.

Glukosa dan fruktosa adalah dua dari gula pereduksi utama yang bertanggung jawab untuk transduksi sinyal tanaman untuk memodulasi toleransi kekeringan (Rolland *et al.*, 2006).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa PEG 6000 memberikan pengaruh nyata terhadap peningkatan kandungan karbohidrat terlarut total pada kondisi cekaman kekeringan tetapi pada secara *in vitro* pada planlet bayam merah.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelia, F.P., Koesriharti. Dan Sunaryo. 2013. Pengaruh Penambahan Unsur Hara Mikro (Fe dan Cu) dalam Media Paitan Cair dan Kotoran Sapi Cair terhadap Pertumbuhan dan Hasil Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) dengan Sistem Hidroponik Rakit Apung. *Jurnal Produksi Tanaman*. 1(3):48-58.
- Ashari,A., Nurcahyani,E., Hardoko I.Q., dan Zulkifli. Analisis Kandungan Prolin Planlet Jeruk Keprok Batu 55 (*Citrus Reticulata* Blanco Var. *Crenatifolia*) Setelah Diinduksi Larutan Atonik dalam Kondisi Cekaman Kekeringan Secara *In Vitro*. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*. 3(01):69-78.
- Bidabadi, S.S., Meon, S., Wahab, Z., Subramaniam,S. and Mahmood, M. 2012. *In Vitro* Selection and Characterization Of Water Stress Tolerant Lines Among Ethyl Methanesulphonate (Ems) Induced Variants Of Banana (*Musa* Spp.), With Aaa Genome). *Australian Journal of Crop Science*. 6(3):567-575.
- Dubois, M., K.A. Gille, J.K Hamilton, P.A. Rebers, dan Smith, F.1956. Colometri method for Determination of sugars and Related Substance. *Anal. Biochem* 28(1956):143-145.
- Kadhimi, A.A., Alhasnawi, A.N., Isahak, A., Ashraf, M.F., Mohamad, A., Yusoff, W.M.W., and Zain, C.R.C.M. 2016. Gamma Radiosensitivity Study on MRQ74 and MR269, Two Elite Varieties of Rice (*Oryza sativa* L.). *Life Science Journal*. 13(2):85 – 91.
- Litbang.2019. Antisipasi Musim Kemarau dengan Varietas Tanaman Pangan Adaptif.<http://www.litbang.pertanian.go.id/info-teknologi/3629/>. Diakses 28 Januari 2020.
- Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik,P.C., and Sohrabi, Y. 2010. Effect Of Drought Stress On Yield, Proline And Chlorophyll Contents In Three Chickpea Cultivars. *Australian Journal Crop Science*. 4(8):580-585.
- Masuko, T., Minami, A., Norimasa, I, Majima, Tokifumi., Nishimura, S dan Lee, Y. 2005. Carbohydrate Analysis by a Phenol–Sulfuric Acid Method in Microplate Format. *Analytic Biochemistry*. 339(2005): 69-72.
- Muliani,Y.N., Damayanti, F & Rostini, N. 2014. Seleksi *In Vitro* Enam Kultivar Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Hasil Iradiasi Sinar Gamma Untuk Toleransi Kekeringan Menggunakan Manitol. *Jurnal Agroteknologi Sains*. S1(4): 71-79.
- Nirmalayanti, A.K., Subadiyasa Netera, I.N., dan Made Arthagama, I.D. 2017. Peningkatan Produksi Dan Mutu Tanaman Bayam Merah (*Amaranthus amoena* Voss) Melalui Beberapa Jenis Pupuk Pada Tanah Inceptisols, Desa Pegok, Denpasar. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 6(1): 2301-6515.
- Nurcahyani, E., Mutmainah, N.A., Farisi, Salman., dan Agustrina, R. 2019. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Buncis (*Phaseolus Vulgaris* L.)

- Menggunakan Metode Fenol-Sulfur Secara *In Vitro*. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*. 4(1):73-80.
- Priscilla, L. J.E., 2017. Penambahan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) Pada Media *Murashige and Skoog* Terhadap Jumlah Akar dan Tinggi Planlet Beberapa Varietas Kentang (*Solanum Tuberosum* L.). (Skripsi). Universitas Advent Indonesia, Bandung.
- Rolland, F.; Baena-Gonzalez, E.; Sheen, J. 2006. Sugar sensing and signaling in plants: Conserved and novel mechanisms. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57:675–709.
- Rosalina, N., Nurcahyani, E., Qudus.I.H., dan Zulkifli. 2018. Pengaruh Larutan Atonik Terhadap Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Jeruk Siam Pontianak (*Citrus Nobilis* Lour. Var. *Microcarpa* Hassk.) Secara *In Vitro*. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*. 3(1):61-68.
- Sari, E.Y. 2019. Analisis Pola DNA dan Karakterisasi Planlet Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) Hasil *Induced Resistance* Dengan Asam Fusarat Terhadap *Fusarium oxysporum* Secara *In Vitro*. *Tesis*. Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Setiawati, T, Rahmawati, F., dan Supriatun, T. 2018. Pertumbuhan Tanaman Bayam Cabut (*Amaranthus tricolor* L.) dengan Aplikasi Pupuk Organik Kascing dan Mulsa Serasah Daun Bambu. *Skripsi*. FMIPA. Universitas Padjadjaran, Sumedang.
- Sunaryo, W., Widoretno, W., and Nurhasanah. 2016. Drought tolerance selection of soybean lines generated from somatic embryogenesis using osmotic stress simulation of *Poly-ethylene glycol* (PEG). *Nus Biosci.* 8(1):45–54.
- Surmaini, E. dan Faqih, A. 2016. Kejadian Iklim Ekstrem dan Dampaknya Terhadap Pertanian Tanaman Pangan di Indonesia. *Jurnal Sumber Daya Lahan*. 10(2):115–128.
- Susetio, M., E., Dardadan Sari, L. 2019. Perlakuan Konsentrasi Poli Etilen Glikol terhadap Pertumbuhan Tunas *In Vitro* Talas Bentul (*Colocasia esculenta* L. Schott) Tetraploid dan Perbanyakannya untuk Seleksi Toleran Kekeringan. *Jurnal Biologi Indonesia*. 15(1):9-22.
- Utami, K. 2016. Laju Pertumbuhan Bayam Merah (*Alternanthera amoena* Voss) Secara Hidroponik dengan Konsentrasi Nutrisi dan Media Tanam yang Berbeda. (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Zhang, J., Yao, Y., John GS., and David CF. 2010. Influence of soil drought stress on photosynthesis, carbohydrates and the nitrogen and phosphorus absorb in different section of leaves and stem of Fugi/M.9EML, a young apple seedling. *African Journal Biotechnology*. 9(33):5320-5325.
- Zulhilmi, S dan Surya, N.W. 2012. Pertumbuhan dan Uji Kualitatif Kandungan Metabolit Sekunder Kalus Gatang (*Spilanthes acmella* murr.) dengan Penambahan PEG Untuk Menginduksi Cekaman Kekeringan. *Jurnal Biologi UA*. 1(1):1-8.