

**ANALISIS KANDUNGAN KLOORIFIL TOTAL DAN KARBOHIDRAT
TERLARUT PLANLET SAWI CAISIM (*Brassica rapa* L.) RESISTEN
TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN SECARA *IN VITRO* DENGAN
POLY ETHYLENE GLYCOL (PEG) 6000**

**Putri Phebit Adelia, Endang Nurcahyani*, Mahfut, Tundjung Tripeni
Handayani**

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung

Jalan Soemantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145

*E-mail: endang_nurcahyani@yahoo.com

ABSTRAK

Sawi caisim (*Brassica rapa* L.) memiliki potensi untuk dikembangkan di Indonesia. Sawi caisim tergolong jenis sayuran yang populer dan banyak dikonsumsi masyarakat, karena memiliki kandungan gizi tinggi dan bernilai ekonomi cukup tinggi. Kendala yang dihadapi dalam budidaya sawi di Indonesia antara lain musim kemarau. Cekaman kekeringan saat musim kemarau dapat mengakibatkan tanaman sawi mengalami defisit air, yang akhirnya menyebabkan penurunan produktivitas sawi. Seleksi *in vitro* bibit sawi caisim menggunakan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000, dapat digunakan untuk pemilihan dan pengembangan bibit unggul sawi caisim yang resisten cekaman kekeringan. Tujuan penelitian ini adalah untuk seleksi planlet sawi caisim resisten cekaman kekeringan secara *in vitro*, serta mengetahui karakter ekspresi spesifik planlet sawi yang tumbuh pada kondisi cekaman kekeringan secara *in vitro*, khususnya kandungan karbohidrat dan kandungan klorofil. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan November 2019 sampai dengan Desember 2019 di Ruang Kultur Jaringan Tumbuhan, Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penyusunan rancangan penelitian menggunakan pola dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari faktor tunggal yaitu konsentrasi PEG 6000 dengan 5 taraf yaitu: P₀ (0%), P₁ (10%), P₂ (20%), P₃ (30%), dan P₄ (40%), dan dilakukan 4 kali ulangan. Parameter yang diamati yaitu: kandungan klorofil total dan kandungan karbohidrat terlarut total. Analisis data menggunakan ANOVA dan uji lanjut dengan Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa PEG 6000

tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap kandungan karbohidrat dan klorofil, meski demikian terjadi sedikit peningkatan kandungan karbohidrat terlarut dan terjadi penurunan kandungan klorofil total.

Kata kunci: Cekaman kekeringan, *in vitro*, Poly Ethylene Glycol 6000, Sawi Caisim (*Brassica rapa* L.).

ABSTRACT

Caisim (*Brassica rapa* L.) has the potential to be developed in Indonesia. Caisim or mustard greens is a type of popular vegetable and widely consumed by the public, because it has a high nutritional content and economic value is quite high. Constraints faced in the cultivation of mustard greens in Indonesia include the dry season. Drought stress during the dry season induces caisim plants to get water deficit, which in turn causes a decrease in caisim productivity. In vitro selection of caisim seedlings using Poly Ethylene Glycol (PEG) 6000, can be used for the selection and development of superior seeds of caisim that is resistant to drought stress. The study aims to selection of caisim resistant to in vitro drought stress, and to determine the specific expression of caisim growing in drought stress conditions, especially carbohydrate content and chlorophyll content. This study was conducted in the Plant Tissue Culture Room, Botany Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Lampung University. Preparation of this study design using the basic pattern of a Completely Randomized Design (CRD) consisting of a single factor that is the concentration of PEG 6000 with 5 levels: P₀ (0%), P₁ (10%), P₂ (20%), P₃ (30%), and P₄ (40%), and repeated 4 times. The parameters observed were: total chlorophyll content and total dissolved carbohydrate content. Data analysis using ANOVA and further tests with the Least Significant Difference (LSD) at the 5% significance level. The results showed that PEG 6000 had no significant effect on carbohydrate and chlorophyll content, however there was a slight increase in dissolved carbohydrate content and a decrease in total chlorophyll content.

Keywords: Drought stress, in vitro, Poly Ethylene Glycol 6000, Caisim (*Brassica rapa* L.).

PENDAHULUAN

Tanaman sawi (*Brassica rapa* L.) merupakan salah satu komoditas tanaman hortikultura dari jenis sayur-sayuran yang banyak dimanfaatkan dan memiliki nilai ekonomis tinggi. Daun sawi memiliki banyak manfaat dan kegunaan dalam kehidupan masyarakat sehari-hari. Selain dimanfaatkan sebagai bahan makanan sayuran, juga dapat dimanfaatkan untuk pengobatan. Selain itu sawi juga digemari oleh konsumen karena memiliki kandungan provitamin A dan asam askorbat yang tinggi (Pracaya, 2011). Sawi caisim tergolong jenis tanaman sayuran yang mudah dibudidayakan. Sayuran berdaun hijau ini tahan terhadap hujan dan dapat dipanen sepanjang tahun tidak tergantung dengan musim. Sayuran sawi merupakan tanaman berumur pendek (Edi dan Bobihoe, 2010).

Sawi caisim adalah jenis tanaman sayur-sayuran yang termasuk keluarga Brassicaceae. Tumbuhan sayuran ini berasal dari Cina dan telah dibudidayakan setelah abad ke-5 secara luas di Cina bagian selatan, Cina pusat, dan Taiwan. Sayuran ini merupakan introduksi baru di Jepang dan masih satu famili dengan *Chinese vegetable*. Sawi caisim saat ini dikembangkan secara luas di Filipina, Malaysia, Indonesia, dan Thailand (Setiawan dkk., 2015). Beberapa jenis sawi yang cukup populer dan banyak dikonsumsi masyarakat, antara lain sawi hijau, sawi putih, sawi pakcoy dan caisim. Sawi pakcoy dan caisim lebih banyak dibudidayakan petani saat ini, di antara jenis-jenis sawi tersebut. Batang dan daunnya yang lebih lebar dari sawi hijau biasa, membuat sawi jenis ini lebih sering digunakan masyarakat dalam berbagai menu masakan (Purba, 2017).

Perubahan musim pada waktu tertentu mempengaruhi pertumbuhan tanaman, satu di antaranya adalah musim kemarau. Musim kemarau yang berkepanjangan dapat menyebabkan terbentuknya stres abiotik berupa kekeringan. Cekaman kekeringan adalah satu di antara permasalahan yang paling serius di bidang pertanian. Cekaman kekeringan dapat menurunkan aktifitas fotosintesis dengan menghambat pembentukan pigmen fotosintesis dan kerja stomata secara signifikan, serta menyebabkan penurunan pada pertumbuhan tanaman (Khan *et al.*, 2015).

Salah satu usaha untuk mengembangkan tanaman sawi yang toleran terhadap cekaman kekeringan adalah seleksi kekeringan secara *in vitro*, sekaligus untuk mengetahui karakter ekspresi spesifik planlet sawi yang resisten cekaman kekeringan. Simulasi cekaman kekeringan secara *in vitro* dilakukan menggunakan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000. PEG merupakan suatu senyawa kimia yang mampu menurunkan potensial osmotik dengan mengikat molekul air menggunakan ikatan hidrogen, akibatnya tanaman menjadi kekurangan pasokan air karena tidak dapat menyerap air dengan baik meskipun ketersediaan air tetap ada dalam media. Kekurangan air pada tanaman dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman (Ai dan Banyo, 2011). Penambahan PEG diharapkan dapat memberikan simulasi cekaman kekeringan seperti yang terjadi di alam, sehingga tanaman memberikan respon terhadap cekaman kekeringan (Nurchayani dkk., 2019).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui karakter ekspresi planlet sawi caisim resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*, khususnya analisis kandungan klorofil dan karbohidrat. Klorofil berperan penting dalam proses fotosintesis untuk memperoleh energi guna pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan. Karbohidrat terlarut total diperlukan untuk mengetahui ketahanan metabolisme dan adaptasi sawi caisim dalam cekaman kekeringan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan November sampai dengan Desember 2019 di ruang Kultur Jaringan Tumbuhan, Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Alat yang akan digunakan pada penelitian ini antara lain *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf, pinset, pisau, aluminium foil, erlenmeyer, gelas beaker, cawan petri, panci, kompor, botol kultur, gelas ukur, plastik, label, neraca analitik, tabung reaksi, spektrofotometri, rak tabung reaksi, mikropipet, pipet tip, corong, batang pengaduk, kertas label, bunsen, dan tisu. Sedangkan bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan biji sawi caisim (*Brassica rapa* L.) dengan merek dagang Cap Panah Merah, *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000, alkohol 96%,

bayclin, akuades, sukrosa, medium *Murashige and Skoog* (MS), spiritus, kalium hidroksida (KOH), dan asam klorida (HCl).

Prosedur

Pembuatan medium tanam MS sebanyak 1 liter adalah dengan cara menimbang medium dasar MS *use ready* sebanyak 4,43 g, kemudian memasukkan ke dalam labu takar ukuran 1 liter. Setelah itu menambahkan akuades sampai tanda 1 liter dan mengatur pH larutan sampai 5,5 dengan cara penambahan KOH 1 N atau HCl 1 N. Memindahkan larutan tersebut ke dalam wadah yang lebih besar kemudian tambahkan agar-agar sebanyak 7 g/l, dan sukrosa 30 g/l. Panaskan sambil mengaduk larutan medium untuk melarutkan agar-agar sampai mendidih, lalu menuangkan ke dalam botol kultur sebanyak 20 ml/botol. Penambahan PEG 6000 ke dalam medium MS padat dengan konsentrasi 0% (kontrol), 10%, 20%, 30% dan 40%. Sterilisasi medium menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm, dan suhu 121 °C selama 15 menit. Sebelum penggunaan, inkubasi medium selama 7 hari pada suhu kamar (25 °C) untuk memastikan ada atau tidaknya kontaminan.

Sterilisasi eksplan biji sawi dalam akuades steril selama 15 menit. Setelah itu merendam biji dengan bayclin selama 30 detik sampai 1 menit, kemudian membilas biji dengan akuades steril sebanyak 3 kali pengulangan. Memindahkan eksplan yang telah steril ke dalam cawan petri. Kegiatan sterilisasi eksplan ini harus steril di dalam LAF. Penanaman eksplan secara steril pada medium MS. Penanaman biji sawi di dalam LAF menggunakan alat tanam berupa pinset. Setiap botol kultur berisi 10 biji, sehingga total biji yang ditanam sebanyak 200 biji dalam 20 botol kultur. Inkubasi kultur biji sawi tersebut hingga tumbuh menjadi planlet di ruang inkubasi.

Analisis kandungan klorofil menggunakan metode Miazek (2002) dengan spektrofotometer (Shimadzu UV 800) dan bahan yang diambil berupa daun planlet sawi caisim yang telah mendapat perlakuan PEG 6000 berbagai konsentrasi. Daun planlet sawi caisim ditimbang sebanyak 0,1 g, kemudian digerus dengan mortar (*pestle*) dan ditambahkan 10 ml alkohol 95%, setelah itu larutan disaring dengan kertas *Whatman* no. 1, dimasukkan ke dalam flakon dan

ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar (alkohol 95%) diambil sebanyak 1 ml, kemudian dimasukkan dalam kuvet untuk dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer UV. Pembacaan serapan dilakukan pada panjang gelombang () 648 nm dan 664 nm, dengan ulangan tiap sampel sebanyak empat kali.

Analisis kandungan karbohidrat terlarut total dengan metode fenol-sulfur berdasarkan Dubois *et al.* (1956). Mengambil dan menimbang planlet sawi sebanyak 0,1 g. Menumbuk sampai halus lalu menambahkan 10 ml akuades, saring dengan kertas saring *Whatman* no. 1 lalu masukkan ke dalam tabung reaksi. Mengambil filtrat sebanyak 1 ml, lalu menambahkan 1 ml H₂SO₄, fenol sebanyak 2 ml, selanjutnya memasukkan filtrat tersebut ke dalam kuvet dan membaca pada panjang gelombang 490 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

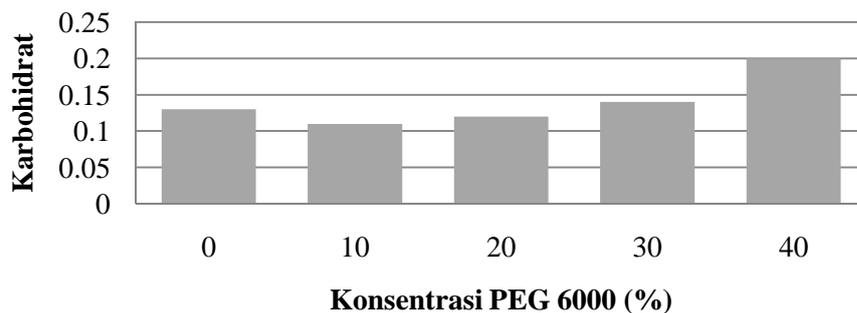
Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total

Data ANOVA menunjukkan bahwa pengaruh PEG 6000 berbagai konsentrasi terhadap planlet sawi caisim tidak memberikan hasil yang signifikan (level signifikan $0,392 > 0,05$), sehingga analisis data lebih lanjut tidak diperlukan. Pengamatan kandungan karbohidrat terlarut total diperlukan untuk mengetahui ketahanan metabolisme dan adaptasi sawi caisim dalam cekaman kekeringan. Perolehan data dari kandungan karbohidrat planlet sawi caisim dalam kondisi cekaman kekeringan menggunakan PEG 6000 berbagai konsentrasi disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Kandungan Karbohidrat Planlet Hasil Seleksi dengan Berbagai Konsentrasi PEG 6000 pada Minggu Ketiga

Konsentrasi PEG 6000	Kandungan Karbohidrat
0% (Kontrol)	0,13±0,04
10%	0,11±0,03
20%	0,12±0,03
30%	0,14±0,03
40%	0,20±0,04

Keterangan: Karbohidrat Terlarut = $\bar{Y} \pm SE$
 \bar{Y} = nilai rata-rata kandungan karbohidrat terlarut
 SE = *Standar Error*
 BNT (0,05) = 0,392



Gambar 13. Diagram nilai rata-rata pengaruh PEG 6000 berbagai konsentrasi terhadap kandungan karbohidrat pada planlet sawi caisim

Hasil analisis yang diperoleh menunjukkan nilai yang tidak signifikan sebab adanya faktor internal dan faktor eksternal pada planlet. Faktor internal berupa faktor genetik, enzim, zat pengatur tumbuh, dan kualitas benih. Faktor eksternal berupa suhu, cahaya, unsur hara, air, pH, dan persaingan. Terlepas dari hasil yang tidak signifikan, diagram batang nilai rata-rata kandungan karbohidrat menunjukkan adanya peningkatan. Konsentrasi PEG 6000 yang semakin tinggi, menyebabkan semakin besar pula kandungan karbohidrat pada sawi caisim.

Hasil fotosintesis berupa karbohidrat terlarut akan ditimbun tanaman sebagai cadangan makanan untuk mempertahankan metabolisme dan mempertahankan tekanan osmosis pada saat cekaman kekeringan. Menurut Zhang *et al.* (2010) selama periode cekaman kekeringan, laju fotosintesis mengalami penurunan dan ketika produksi fotosintesis tidak lagi mencukupi, maka pemecahan karbohidrat terlarut dapat digunakan untuk mempertahankan metabolisme. Semua spesies tanaman memiliki mekanisme menghindari dari kekeringan dan kemampuan untuk menyesuaikan diri dengan osmoregulasi, karena adanya peningkatan fleksibilitas sebagai respons terhadap perubahan kondisi lingkungan. Mafakheri *et al.* (2010) menyatakan bahwa cekaman kekeringan dapat meningkatkan konsentrasi karbohidrat terlarut pada tanaman percobaan.

Peningkatan karbohidrat terlarut saat cekaman kekeringan juga sesuai dengan jurnal Pratiwi (2016), bahwa tanaman yang mengalami cekaman kekeringan akan berusaha melakukan perubahan-perubahan fisiologis sebagai bentuk adaptasinya agar bisa bertahan hidup. Salah satu bentuk adaptasi tersebut adalah kemampuan

tanaman untuk mempertahankan tekanan turgor atau penyesuaian osmotik dan mengakumulasi senyawa-senyawa terlarut yang meliputi gula, asam amino, prolin, dan glisin betain. Kelarutan karbohidrat dapat membantu tanaman untuk bertahan hidup menghadapi cekaman dan menjaga tekanan osmotik sel yang disebabkan oleh kekeringan.

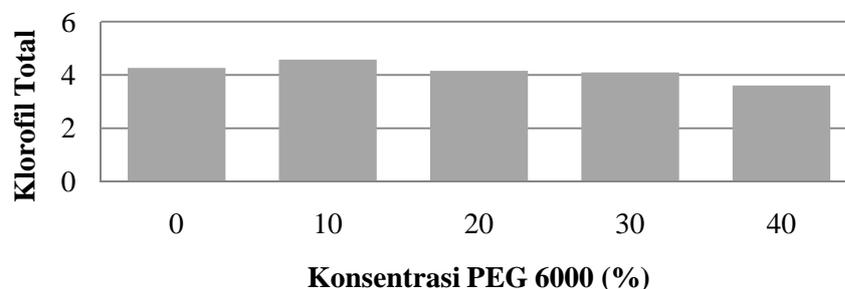
Klorofil Total

Analisis data kandungan klorofil total planlet sawi caisim dengan perlakuan PEG 6000 berbagai konsentrasi menunjukkan bahwa terjadi penurunan rata-rata kandungan klorofil total, walaupun dalam ANOVA tidak menunjukkan adanya pengaruh PEG 6000 yang signifikan (level signifikan $0,663 > 0,05$) terhadap kandungan klorofil total, maka hasil data tidak dilakukan uji lanjut dengan BNT. Pengaruh PEG 6000 berbagai konsentrasi terhadap kandungan klorofil total planlet sawi caisim disajikan pada Tabel 12 dan Gambar 12.

Tabel 2. Kandungan Klorofil Total Planlet Hasil Seleksi dengan Berbagai Konsentrasi PEG 6000 pada Minggu Ketiga

Konsentrasi PEG 6000	Kandungan Klorofil Total
0% (Kontrol)	4,26±0,22
10%	4,58±0,27
20%	4,15±0,30
30%	4,10±0,43
40%	3,60±0,80

Keterangan: $\text{Klorofil Total} = \bar{Y} \pm \text{SE}$
 \bar{Y} = nilai rata-rata kandungan klorofil total
 SE = *Standar Error*
 BNT (0,05) = 0,663



Gambar 2. Diagram nilai rata-rata pengaruh PEG 6000 berbagai konsentrasi terhadap kandungan klorofil a pada planlet sawi caisim

Diagram analisis kandungan klorofil a menunjukkan adanya penurunan, meskipun data analisis tidak signifikan. Hasil yang tidak signifikan dapat disebabkan oleh faktor internal dan faktor eksternal pada planlet. Faktor internal berupa faktor genetik, enzim, zat pengatur tumbuh, dan kualitas benih. Faktor eksternal berupa suhu, cahaya, unsur hara, air, pH, dan persaingan.

Rendahnya kandungan klorofil total dalam kondisi cekaman kekeringan disebabkan karena terjadinya penurunan laju fotosintesis. Penurunan laju fotosintesis akan mengakibatkan sintesis klorofil menjadi terhambat. Kekurangan air juga menghambat penyerapan unsur hara yang dibutuhkan untuk sintesis klorofil. Menurut Hendriyani dan Nantya (2009), sintesis klorofil pada daun dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu gula, cahaya, air, karbohidrat, dan unsur-unsur (N, Fe, Mg, Mn, Cu, Zn, S, dan O). Hal yang sama juga dinyatakan oleh Ai dan Banyo (2011), bahwa penurunan konsentrasi klorofil pada daun disebabkan adanya respon fisiologis tanaman yang mengalami kekurangan air. Respon fisiologis tersebut terdiri dari pembentukan klorofil yang terhambat, penurunan enzim rubisco dan terhambatnya penyerapan unsur hara yang dibutuhkan dalam sintesis klorofil.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa PEG 6000 tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap kandungan karbohidrat dan klorofil, meski demikian terjadi sedikit peningkatan kandungan karbohidrat terlarut dan terjadi penurunan kandungan klorofil total.

DAFTAR PUSTAKA

- Ai NS dan Banyo Y. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*. 11(2): 166-173.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, and Amith F. 1956. Calorimetric Method for Determination Sugar of Sugars and Related Substance. *Analytical Chemistry*. 28(3): 350-356.
- Edi S dan Bobihoe J. 2010. *Budidaya Tanaman Sayuran*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Jambi. Jambi.

- Hendriyani IS & Nantya S. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. *Jurnal Sains dan Matematika*. 17(3): 150.
- Khan MI, Fatma M, Per TS, Anjum NA, and Khan MA. 2015. Salicylic Acid Induced Abiotic Stress Tolerance and Underlying Mechanism in Plants. *Frontiers in Plant Science*. 6(462): 1-11.
- Mafakheri A, Siosemardeh A, Bahramnejad B, Struik PC, and Sohrabi Y. 2010. Effect of Drought Stress on Yield, Proline and Chlorophyll Contents in Three Chickpea Cultivars. *Australian Journal of Crop Science*. 4(8): 580-585.
- Miazek C. 2002. *Chlorophyll Extraction From Harvested Plant Material*. Supervisor: Prof. Dr. Hab. Inz. Stanislaw Ledakowics.
- Nurchayani E, Sumardi, Qudus HI, Palupi A, & Sholekhah. 2019. Analysis of Chlorophyll *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl. Results of the Resistance to *Fusarium oxysporum* and Drought Stress. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*. 12: 41-46.
- Pracaya. 2011. Bertanam Mangga. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Pratiwi AR. 2016. Kajian Efek *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 Terhadap Cekaman Kekeringan Planlet Kedelai (*Glycine nax* (L.) Merrill) Varietas Tanggamus Secara *In Vitro*. (*Skripsi*). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 55 hlm.
- Purba DW. 2017. Respon Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Sawi Pakcoy (*Brassica Juncea* L.) Terhadap Pemberian Pupuk Organik Dofosf G-21 dan Air Kelapa Tua. *Agrium*. 21(1): 8-19.
- Setiawan IGP, Niswati A, Hendarto K dan Yusnaini S. 2015. Pengaruh Dosis Vermikompos Terhadap Pertumbuhan Tanaman Pakcoy (*Brassica rapa* L.) dan Perubahan Beberapa Sifat Kimia Tanah Ultisol Taman Bogo. *Jurnal Agrotek Tropika*. 3(1): 170-173.
- 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 Fuji/M.9EML, A Young Apple Seedling. *African Journal of Biotechnology*. 9(33): 5320-5325.