

ANALISIS KANDUNGAN KLOOROFIL TERHADAP PERTUMBUHAN EKSPLAN PLANLET ANGGREK BULAN [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] HASIL SELEKSI DENGAN *POLY ETHYLENE GLYCOL* (PEG) 6000 SECARA *IN VITRO*

Endang Nurcahyani²⁾, Nur Aisyah Amini¹⁾, Zulkifli¹⁾, Mahfut²⁾

¹⁾Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung

²⁾Program Studi Biologi Terapan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung
Jl. Prof. Dr. Ir. Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung 35141

endang_nurcahyani@fmipa.unila.ac.id

ABSTRAK

Anggrek bulan [*Phalaenopsis amabilis* L.) Bl.] adalah salah satu jenis tanaman anggrek yang banyak diminati oleh berbagai kalangan karena memiliki bentuk dan warna bunga yang indah, serta memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Kendala dalam pembudidayaan *P. amabilis* adalah tidak dapat tahan terhadap cekaman abiotik dan kondisi kekeringan di lingkungannya. Seleksi kultur *in vitro* planlet dengan PEG 6000 merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengembangkan kultivar *P. Amabilis* yang resisten terhadap cekaman kekeringan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui dan menganalisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet *P. Amabilis* yang mengalami cekaman kekeringan meliputi: kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total. Penelitian ini dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 1 faktor, yaitu PEG 6000 dengan 5 taraf : 0%, 5%, 10%, 15% dan 20% dengan 5 kali ulangan. Homogenitas ragam di uji dengan menggunakan uji Levene dilanjutkan dengan analisis ragam pada taraf nyata 5% dan dilanjutkan dengan dianalisis dengan menggunakan Anova *One Way* pada taraf nyata 5%, selanjutnya jika data menunjukkan berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf nyata 5%. Hasil Penelitian ini menunjukkan kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total berpengaruh nyata terhadap konsentrasi PEG 6000 dan semakin meningkat konsentrasi PEG 6000 maka kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total planlet *P. Amabilis* mengalami penurunan.

Kata kunci : Anggrek bulan, Cekaman Kekeringan, *In Vitro*, Klorofil, PEG (6000).

ABSTRACT

The month orchid [*Phalaenopsis amabilis* L.) Bl.] Is one of the orchid plants that is in high demand by various groups because it has a beautiful flower shape and color, and has high economic value. Constraints in cultivation *P. amabilis* is unable to withstand abiotic stress and drought conditions in its environment. *In vitro* plantlet culture selection with PEG 6000 is one method that can be used to develop *P. amabilis* cultivars that are resistant to drought stress. The purpose of this study was to determine and analyze the specific expression characteristics of *P. amabilis* plantlets which experienced drought stresses including: chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll content. This research was conducted with a Completely Randomized Design (CRD) consisting of 1 factor, namely PEG 6000 with 5 levels: 0%, 5%, 10%, 15% and 20% with 5 replications. Homogeneity of

variance was tested using the Levene test followed by analysis of variance at 5% significance level and continued by analyzing using Anova One Way at 5% significance level, then if the data showed significantly different then continued with the Honestly Significant Difference test (HSD) at the standard level 5% real. The results of this study indicate that the total chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll content significantly influence the PEG 6000 concentration and the increasing PEG 6000 concentration, the content of the chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll of the *P. amabilis* planlet has decreased.

Keywords: Chlorophyll, Drought stress, In Vitro, Moon orchid, PEG (6000).

PENDAHULUAN

Anggrek merupakan tanaman hias yang banyak disenangi oleh masyarakat luas, selain memiliki warna bunga yang menarik, anggrek juga memiliki nilai jual yang tinggi sehingga dapat menarik banyak peminat. Produksi anggrek terutama anggrek bulan di Indonesia masih jauh tertinggal dibandingkan dengan negara-negara lain seperti Thailand, Taiwan, Singapura dan Australia (Purwati, 2012).

Anggrek bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] memiliki bentuk bunga yang sangat indah, oleh karena itu anggrek bulan ditetapkan sebagai bunga nasional Indonesia berdasarkan Keputusan Presiden Nomor 4/1993. Indonesia memiliki tiga bunga nasional, yaitu bunga melati (*Jasminum sambac* L.) sebagai puspa bangsa, bunga padma raksasa (*Rafflesia arnoldi* R. Br.) sebagai puspa langka, dan anggrek bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] sebagai puspa pesona (Puspitaningtyas dan Mursidawati, 2010).

Kondisi kurangnya air akibat keterbatasan ketersediaan air lingkungan tumbuhan (medium tanam) disebut dengan cekaman kekeringan. Pada saat musim kemarau, penyerapan air berkurang terus menerus sementara pemasok air ke dalam tanah lahan terus menerus terjadi. Air tanah akan menguap mengakibatkan lahan kering dan jika berlangsung dalam waktu lama pertanaman akan pertumbuhan tanaman menurun dan bahkan menyebabkan mati (Sinaga, 2015).

Salah satu alternatif yang efektif dan efisien untuk mengatasi cekaman kekeringan pada tanaman yaitu dengan menggunakan varietas yang tahan terhadap kekeringan (Nurcahyani, *et al.*, 2019c). Cara untuk mendapatkan bibit yang tahan terhadap kekeringan dapat dilakukan dengan menggunakan teknik *in vitro*. Seleksi cekaman kekeringan pada teknik *in vitro* dapat

dilakukan dengan cara pemberian agen penyeleksi ke dalam medium tanam (Muliani, *et al.*, 2014).

Penggunaan PEG sebagai senyawa selektif untuk mendapatkan tanaman yang tahan terhadap kekeringan pada jeruk keprok batu 55 (Ashari, *et al.*, 2018)

PEG yang larut sempurna dalam air mempunyai kemampuan dapat menurunkan potensial air, dan diharapkan sebagai kondisi selektif untuk mengetahui respon jaringan yang ditanam terhadap cekaman kekeringan serta mengisolasi sel atau jaringan varian yang mempunyai toleransi terhadap cekaman sehingga dapat digunakan untuk menstimulasi besarnya potensial air tanah (Badami dan Amzeri, 2010).

Menurut Homayoun *et al* (2011), proses sintesis klorofil sangat dipengaruhi oleh air. Pada saat terjadi hujan kandungan klorofil akan meningkat dan akan menurun saat keadaan tanah gersang. Kadar air pada daun berperan dalam mempertahankan jumlah maksimum kadar klorofil.

Respon tanaman terhadap kekurangan air menyebabkan terjadinya penurunan kandungan klorofil pada daun. Penurunan konsentrasi klorofil pada daun karena 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 seperti nitrogen serta magnesium yang sangat dibutuhkan tanaman dalam sintesis klorofil (Nio dan Banyo, 2011).

METODE

Alat dan Bahan

Penelitian ini dilakukan dalam Rancangan Acak Lengkap dengan 1 faktor dan 5 kali ulangan. Tempat penelitian di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung selama 4 minggu. Peralatan yang digunakan adalah botol kultur, aluminium foil, autoklaf, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF) merek ESCO, *hot plate*, pinset, *scalpel*, mata pisau, kertas filter, erlenmeyer berukuran 50-100 mL, mikropipet, timbangan analitik, dan kamera Canon. Bahan penelitian yang digunakan ialah planlet anggrek bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.], alkohol 96% untuk sterilisasi alat, aquades, *Poly ethylene Glycol* 6000 (PEG) (0%, 5%, 10% ,15%, dan 20%), medium Vacin dan Went, Kalium Hidroksida (KOH), Asam Chlorida (HCl), agar, arang aktif, dan bayclin.

PROSEDUR

Medium yang digunakan adalah media *Vacin and Went* (VW) padat. Pembuatan media VW sebanyak 1 liter adalah akuades dimasukkan ke dalam labu takar sampai tanda 1 liter dan diatur pH sampai 5,5 dengan penambahan NaOH 1N atau HCl 1N. Larutan tersebut ditambahkan agar-agar 7g/l, sukrosa 30 g/l, dan PPM 0,5 ml/l. Larutan medium dipanaskan sampai mendidih dan diaduk. Medium dituangkan ke dalam botol sebanyak 20 ml/botol. Sterilisasi medium menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5 psi, suhu 121 °C selama 15 menit. Media *Vacin and Went* padat ditambahkan dengan larutan PEG sesuai dengan konsentrasi yaitu 0%, 5%, 10%, 15 %, dan 20%. *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 ditambahkan ke dalam medium VW. Sebelum digunakan, medium diinkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar (25 °C).

Planlet *P. amabilis* ditanam pada masing-masing botol kultur yang berisi media *Vacin and Went* yang telah mengandung *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali dengan dan setiap ulangan terdiri dari 2 eksplan dalam setiap botol kultur. Kemudian diinkubasi pada ruangan dengan penyiaran ± 1000 lux, 24 jam/hari dan suhu ± 20°C.

Bahan yang digunakan untuk analisis klorofil yaitu daun planlet *P. amabilis* yang telah diseleksi dengan PEG 6000, menggunakan metode Miazek (2002) dengan spektrofotometer. Daun planlet *P. amabilis* yang seragam sebanyak 0,1 gram dihilangkan ibu tulang daunnya, kemudian digerus 100% dengan *mortar (pestle)* dan ditambahkan 10ml ethanol 96%. Larutan disaring dengan kertas *Whatman* No. 1 dan dimasukkan ke dalam *flakon* lalu ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar (ethanol96%) diambil sebanyak 1mL, dimasukkan dalam kuvet. Setelah itu dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang (λ) 649 nm dan 665nm, dengan tiga kali ulangan setiap sampel. Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Chl}_a = 13.36 A_{665} - 5.19 A_{649} \left(\frac{v}{w \times 1000} \right)$$

$$\text{Chl}_b = 27.43 A_{649} - 8.12 A_{665} \left(\frac{v}{w \times 1000} \right)$$

$$\text{Chl}_{\text{total}} = 22.24 A_{649} - 5.24 A_{665} \left(\frac{v}{w \times 1000} \right)$$

Keterangan :

Chl_a = klorofil a

Chl_b = klorofil b

Chl_{total} = klorofil total

A₆₆₅ = absorbansi pada panjang gelombang 665 nm

A_{649} = absorbansi pada panjang gelombang 649 nm
V = volume etanol
W = berat daun

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis kandungan klorofil yang dilakukan adalah analisis kandungan klorofil a, klorofilb, dan klorofil total. Kandungan klorofil pada daun planlet anggrek bulan merupakan salah satu ekspresi spesifik yang dapat diamati setelah pengamatan selesai dengan lama pengamatan selama 4 minggu. Analisis ini mampu digunakan sebagai aplikasi dalam menyeleksi planlet yang resisten terhadap cekaman kekeringan sehingga didapatkan varietas planlet yang resisten terhadap cekaman kekeringan.

Kandungan Klorofil a

Kandungan klorofil a planlet *P. amabilis* yang diseleksi dengan PEG 6000 disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Rata-rata kandungan klorofil a planlet *P. amabilis* pada beberapa konsentrasi PEG 6000.

Konsentrasi PEG (%)	Rata-rata Klorofil a (mg/g jaringan)
0	0,133 ± 0,014 ^a
5	0,099 ± 0,012 ^a
10	0,090 ± 0,006 ^b
15	0,070 ± 0,006 ^b
20	0,080 ± 0,007 ^b

Keterangan :

Klorofil a = $\bar{Y} \pm SE$
 \bar{Y} = Rata-rata klorofil a
SE = Standar error
HSD (0,05) = 0,04

Berdasarkan **Tabel 1** pengamatan kandungan klorofil a yang diperoleh setelah pengamatan selama 4 minggu kemudian dihomogenkan menggunakan uji levene pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa nilai P-value = 0,1973 > 0,05 yang berarti data homogen. Selanjutnya data dianalisis menggunakan analisis ragam pada taraf nyata 5% dengan nilai P-value = 0,0021 < 0,05 menunjukkan bahwa penambahan PEG 6000 kedalam medium VW dengan berbagai konsentrasi berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil a planlet *P. amabilis*. Dengan demikian data dapat di uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf nyata 5%. Uji BNJ pada taraf nyata 5% dengan berbagai

konsentrasi PEG 6000 menunjukkan bahwa kandungan klorofil a planlet *P. amabilis* pada konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% lebih rendah dari pada kontrol.

Kandungan Klorofil b

Kandungan klorofil b planlet *P. amabilis* yang diseleksi dengan PEG 6000 disajikan pada **Tabel 2.**

Tabel 2. Rata-rata kandungan klorofil b planlet *P. amabilis* pada beberapa konsentrasi PEG 6000.

Konsentrasi PEG (%)	Rata-rata Klorofil b (mg/g jaringan)
0	1,220 ± 0,148 ^a
5	0,921 ± 0,122 ^a
10	0,792 ± 0,091 ^a
15	0,548 ± 0,067 ^b
20	0,575 ± 0,064 ^b

Keterangan :

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

\bar{Y} = Rata-rata klorofil b

SE = Standar error

HSD (0,05) = 0,44

Berdasarkan **Tabel 2** pengamatan kandungan klorofil b yang diperoleh setelah pengamatan selama 4 minggu kemudian dihomogenkan menggunakan uji levene pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa nilai P-value = 0,2067 > 0,05 yang berarti data homogen. Selanjutnya data dianalisis menggunakan analisis ragam pada taraf nyata 5% dengan nilai P-value = 0,0009 < 0,05 menunjukkan bahwa penambahan PEG 6000 kedalam medium VW dengan berbagai konsentrasi berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil b planlet *P. amabilis*. Dengan demikian data dapat di uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf nyata 5%. Uji BNJ pada taraf nyata 5% dengan berbagai konsentrasi PEG 6000 menunjukkan bahwa kandungan klorofil b planlet *P. amabilis* pada konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% lebih rendah dari pada kontrol.

Kandungan Klorofil total

Rata-rata kandungan klorofil total pada planlet *P. amabilis* yang diseleksi dengan PEG 6000. Kandungan klorofil total planlet *P. amabilis* yang diseleksi dengan PEG 6000 disajikan pada **Tabel 3.**

Tabel 3. Rata-rata kandungan klorofil total planlet *P. amabilis* pada beberapa konsentrasi PEG 6000.

Konsentrasi PEG (%)	Rata-rata Klorofil total (mg/g jaringan)
0	1,357 ± 0,163 ^a
5	0,972 ± 0,113 ^a
10	0,883 ± 0,097 ^b
15	0,617 ± 0,072 ^b
20	0,655 ± 0,069 ^b

Keterangan :

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

\bar{Y} = Rata-rata klorofil total

SE = Standar error

HSD = 0,46

Berdasarkan **Tabel 3** pengamatan kandungan klorofil total yang diperoleh setelah pengamatan selama 4 minggu kemudian dihomogenkan menggunakan uji levene pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa nilai P-value = 0,1546 > 0,05 yang berarti data homogen. Selanjutnya data dianalisis menggunakan analisis ragam pada taraf nyata 5% dengan nilai P-value = 0,0007 < 0,05 menunjukkan bahwa penambahan PEG 6000 kedalam medium VW dengan berbagai konsentrasi berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil total planlet *P. amabilis*. Dengan demikian data dapat di uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf nyata 5%. Uji BNJ pada taraf nyata 5% dengan berbagai konsentrasi PEG 6000 menunjukkan bahwa kandungan klorofil total planlet *P. amabilis* pada konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% lebih rendah dari pada kontrol.

Penambahan PEG 6000 dengan konsentrasi 5% sampai dengan konsentrasi 20% menurunkan kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total. Turunnya kandungan klorofil disebabkan karena aspek pertumbuhan dipengaruhi oleh air. Hasil ini juga berkorelasi positif dengan penelitian Nio Song (2011) tentang biomassa dan kandungan klorofil total daun jahe (*Zingiber officinale*L.) yang mengalami cekaman kekeringan yang didapatkan hasil menurunnya kandungan klorofil.

KESIMPULAN

Kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total daun planlet anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) dengan berbagai konsentrasi PEG menunjukkan hasil berpengaruh nyata dan mengalami penurunan, semakin tinggi konsentrasi PEG 6000, maka semakin menurun kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashari, A. Nurcahyani, E., Qudus H. I., dan Zulkifli. 2018. Analisis Kandungan Prolin Planlet Jeruk Keprok Batu 55 (*Citrus Reticulata* Blanco Var. *Crenatifolia*) Setelah Diinduksi Larutan Atonik Dalam Kondisi Cekaman Kekeringan Secara *In Vitro*. *Jurnal Analit.* 11. 69-78
- Badami K dan A. Amzeri. 2010. Seleksi *In Vitro* untuk Toleransi Terhadap Kekeringan pada Jagung (*Zea Mays* L.) dengan *Poly ethylene Glycol* (PEG). *Agrovigor* Vol 3, No.1.
- Campbell, N. A & Jane B. R. 2008. *Biologi Jilid 2 Edisi Kedelapan*. Erlangga. Jakarta.
- Djazuli M. 2010. Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Pertumbuhan dan Beberapa Karakter Morfo-Fisiologis Tanaman Nilam. *Bul. Littro* Vol 21 No. 1. Hlm.8-17
- Homayoun H, Daliri M.S., and Mehrabi P. 2011. Effect of Drough Stress on Leaf Chlorophyll in Corn Cultivars (*Zea mays*). *Middle-East Journal of Scientific Research* 9 (3): Hlm. 418-420.
- Miazek, MgrInz. 2002. Krystian. *Chlorophyll Extraction From Harvested Plant Material*. Supervisor: Prof. Dr. Ha. Inz Stanislaw Ledakowicz.
- Muliani, Y.N., F. Damayanti, dan N. Rostini. 2014. Seleksi *In Vitro* Enam Kultivar Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Hasil Radiasi Sinar Gamma Untuk Toleransi Kekeringan Menggunakan Manitol. *Agric. Sci. J.* 1(4): 71-79.
- Nio Song A. 2011. Biomassa Dan Kandungan Klorofil Total Daun Jahe (*Zingiber officinale* L.) Yang Mengalami Cekaman Kekeringan. *Jurnal Ilmiah Sains* Vol.11 No. 1.
- Nio Song A dan Y. Banyo. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains* Vol 11, No. 2.
- Nurcahyani, E., Muthmainah, N.A., Farisi, S., Agustrina, R. 2019a. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Menggunakan Metode Fenol- Sulfur Secara *In Vitro*. *Jurnal Analit* Vol. 4 No. 1.
- Nurcahyani, E., Sazilly, M.R., Farisi, S., Agustrina, R., 2019b. Efek Inokulasi *Rhizoctonia solanii* Terhadap Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Kacang Panjang (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Secara *In Vitro*. *Jurnal Analit* Vol.4 No. 1.

- Nurcahyani, E., Sumardi, Qudus, H.I, Wahyuningsih, S., Palupi, A., Sholekhah, 2019c. Analysis of Chlorophyll *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl. Results of the Resistance to *Fusarium oxysporum* and Drought Stress. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*. Vol 12, Issue 11, 41-46.
- Purwati, P. 2012. Pengaruh Macam Media Dalam Keberhasilan Aklimatisasi Anggrek *Phalaenopsis Amabilis* (Anggrek Bulan). Program Studi Hortikultura Jurusan Budidaya Tanaman Pangan Politeknik Negeri Lampung.
- Rosyalina, N., Nurcahyani, E., Qudus, H.I., dan Zulkifli. 2018. Pengaruh Larutan Atonik Terhadap Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Jeruk Siam Pontianak (*Citrus nobilis* Lour. var. *microcarpa* Hassk.) Secara *InVitro*. *Jurnal Analit.* 3 ; 61-68.
- Sinaga, E. 2015. Seleksi Toleransi Kekeringan *In Vitro* Terhadap Enam Belas Tanaman Terung (*Solanum melongena* L.). *Hayati* (11) :39-48.