

Aktivitas Enzim Peroksidase Daun Planlet Pisang Ketan (*Musa paradisiaca* L.) Hasil Pengimbasan Ketahanan terhadap Asam Salisilat secara In Vitro

Peroxidase Enzyme Activity of Leaves of Banana Ketan Plantlet (*Musa paradisiaca* L.) Results of Induced Resistance of The In Vitro Salicylic Acid

Imamah Muslimah*, Endang Nurcahyani, dan Zulkifli

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, Bandar Lampung, Indonesia
Jl. Prof. Dr. Soemantri Brojonegoro No. 1, Bandar Lampung, Indonesia 35145
e-mail: imamahmuslimah0405@gmail.com

ABSTRACT

*Banana plant production are decreased because it getting an attack from *Fusarium oxysporum*. "ketan" Banana plantlet that resistant to the *Fusarium oxysporum* were selected by in vitro in the solid Murashige and Skoog (MS) medium with added salicylic acid at 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, and 70 ppm concentration, compared with controls (0 ppm). The aim of this research is to determine the activity of peroxidase enzyme on leaves of banana ketan plantlet. The research was carried out in December 2015 to February 2016 in the Laboratory of Botani (in vitro room), 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. Extraction of peroxidase method using Saravanan et al. (2004) with the mixture of pyrogallol and H₂O₂. The absorbance was measured with a spectrophotometer (Shimudzu UV 800) at wavelength (λ) of 420 nm and readable from zero. The result showed that the activity of peroxidase enzyme on the leaves banana ketan plantlet has increased optimally in the salicylic acid concentration of 50 ppm compared with controls. Increased of Peroxidase enzyme activity showed that banana ketan plantlet was resistant to the salicylic acid and expected to be resistant to *Fusarium oxysporum*.*

Keywords: Salicylic acid, Peroxidase enzyme, Fusarium oxysporum, in vitro, Banana ketan

Diterima : 18 Agustus 2016, Disetujui : 20 juli 2017

PENDAHULUAN

Pisang merupakan bahan pangan ke empat terpenting di dunia setelah beras, susu, dan gandum (Megia, 2005). Selain itu, pisang menjadi komoditas buah tropis yang sangat populer di dunia karena rasanya lezat, kandungan gizi tinggi, dan harga relatif murah (Sunarjono, 2004). Salah satu jenis pisang yang unggul di Indonesia yaitu pisang ketan (Mulyani *et al.*, 2008).

Kendala utama yang sering dihadapi oleh petani pisang Indonesia yaitu layu fusarium yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* (*Foc*) (Dimiyati *et al.*, 2000). *Fusarium oxysporum* merupakan jamur yang bersifat tular tanah (*soil-borne pathogen*). Jamur ini dapat menular melalui tanah atau dari tanaman sakit lain dan menginfeksi tanaman melalui luka pada akar sehingga menyebabkan penyakit layu (Semangun, 1989).

Salah satu alternatif yang efisien dan efektif untuk mengendalikan jamur *Fusarium oxysporum* yaitu penggunaan varietas yang tahan (Nurchayani, 2014). Pengembangan kultivar tahan *Fusarium oxysporum* dapat dilakukan menggunakan metode seleksi *in vitro* (Suryanti *et al.*, 2009) yaitu seleksi yang dilakukan terhadap eksplan pada kultur *in vitro* menggunakan elisitor (Predieri, 2001). Berdasarkan hal tersebut di atas, maka dilakukan pengujian ketahanan pisang terhadap *Foc* dengan penambahan asam salisilat pada konsentrasi berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan menganalisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet pisang ketan tahan asam salisilat secara *in vitro* yaitu kandungan enzim peroksidase.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Botani (ruang penelitian *in vitro*), Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung dari Desember 2015 sampai dengan Februari 2016. Penelitian dilaksanakan dalam rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan adalah penambahan asam salisilat ke dalam medium *Murashige and Skoog* (MS) dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol), 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, dan 70 ppm. Satuan percobaan adalah planlet pisang ketan yang ditanam pada medium MS yang telah ditambah asam salisilat dengan berbagai konsentrasi. Data dianalisis ragam dan jika berbeda nyata dilanjutkan dengan uji BNT pada taraf nyata 5%.

Persiapan medium tanam dan seleksi. Medium yang digunakan adalah MS padat dengan penambahan Benzyl Amino Purin (BAP). Setelah medium dicairkan, kemudian disterilisasi selama 15 menit. Medium MS yang sudah disterilkan kemudian ditambah asam salisilat (AS) dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol), 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, dan 70 ppm.

Penanaman planlet dalam medium seleksi asam salisilat. 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 5 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 2 eksplan pisang ketan dalam setiap botol kultur.

Analisis Aktivitas Enzim Peroksidase. Aktivitas enzim peroksidase dianalisis dengan metode Saravanan *et al.* (2004). Di tabung reaksi dibuat campuran 1,5 mL 0,05 M pirogalol, 0,5 mL ekstrak enzim dari daun planlet pisang ketan, dan 0,5 mL 1% H₂O₂. Campuran diendapkan dalam suhu kamar dan dimasukkan ke dalam kuvet berukuran 0,5 mL. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang (λ) 420 nm dan dibaca dari nol, dengan ulangan tiap sampel sebanyak 3 kali. Aktivitas enzim dihitung dalam U/mg/min. Satu unit adalah aktivitas berubahnya *Optimal Density* (OD) 420 nm pada spektrofotometer per menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas enzim peroksidase daun planlet pisang ketan yang di tanam pada medium *Murashige and Skoog* (MS) dengan penambahan berbagai konsentrasi asam salisilat di sajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas enzim peroksidase daun planlet pisang ketan yang tidak diimbis (kontrol) dan telah diimbis asam salisilat (40, 50, 60, dan 70 ppm)

Konsentrasi Asam Salisilat (ppm)	Aktivitas enzim peroksidase (U/mg/min)
0 (Kontrol)	0,171 ± 3,333E-07 ^a
40	0,246 ± 3,333E-07 ^b
50	0,316 ± 3,333E-07 ^c
60	0,132 ± 1,111E-07 ^d
70	0,227 ± 7,778E-07 ^e

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

Berdasarkan data yang ditampilkan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa penambahan asam salisilat pada medium MS dengan berbagai konsentrasi berpengaruh nyata terhadap aktivitas enzim peroksidase. Uji BNT pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa aktivitas enzim peroksidase daun planlet pisang ketan pada konsentrasi asam salisilat 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, dan 70 ppm berbeda nyata terhadap kontrol dan terhadap perlakuan lainnya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengimbasan asam salisilat terhadap planlet pisang ketan memberikan pengaruh positif terhadap aktivitas enzim peroksidase. Aktivitas enzim peroksidase mengalami peningkatan secara optimum pada konsentrasi asam salisilat 50 ppm. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Nurcahyani *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa terjadi peningkatan aktivitas enzim peroksidase pada planlet vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) yang terimbas asam fusarat.

Selain itu, hasil penelitian ini sejalan dengan Susilowati (2015) yang menyatakan bahwa aktivitas enzim peroksidase pada planlet anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) yang diimbas asam salisilat secara *in vitro* menunjukkan peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol (0 ppm). Yanti (2011) melaporkan bahwa terjadi peningkatan variasi aktivitas enzim peroksidase pada bibit pisang kepok yang diberi perlakuan mutagen *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS) secara *in vitro*. Menurut Agrios (2005), tanaman yang peka tidak mengalami perubahan atau bahkan mengalami penurunan aktivitas enzim peroksidase dibandingkan dengan tanaman dalam keadaan sehat, sedangkan tanaman yang tahan akan mengalami peningkatan.

Campbell dan Jane (2008) menyatakan bahwa enzim peroksidase merupakan enzim yang berperan penting dalam biosintesis lignin. Tahapan polimerisasi lignin melibatkan enzim peroksidase yang diduga secara langsung berkaitan dengan peningkatan ketahanan fisik tanaman terhadap infeksi patogen maupun kerusakan fisik (Phabiola dan Khalimi, 2012).

KESIMPULAN

Hasil dari pengimbasan asam salisilat pada medium MS dengan konsentrasi 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, dan 70 ppm berpengaruh nyata terhadap kandungan enzim peroksidase. Aktivitas enzim peroksidase mengalami peningkatan secara optimum pada konsentrasi asam salisilat 50 ppm.

SARAN

Penggunaan asam salisilat pada konsentrasi 50 ppm dianjurkan sebagai agen penyeleksi ketahanan planlet pisang ketan terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology, 5th ed. Elsevier Academic Press. California.
- Campbell, N.A & Jane B.R. 2008. *BIOLOGI Jilid 2 Edisi Kedelapan*. Erlangga. Jakarta.
- Dimiyati, A., I Djatnika, C. Hermanto, N. Nasir, and A. Hasyim. 2000. Current Research Activities on Banana Disease and Pests in Indonesia. *Proc. At The 10th INIBAP- ASPNET*. Bangkok. pp 110- 122.
- Megia, R. 2005. *Musa* sebagai Model Genom [Review]. *Hayati*. 12 (4). pp 167- 170.
- Mulyani, N., Suprpto, dan Hendra, J. 2008. *Teknologi Budidaya Pisang*. Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian. 26 p.
- Nurcahyani, E., B. Hadisutrisno, I. Sumardi, dan E. Suharyanto. 2014. Identifikasi galur planlet vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Resisten terhadap infeksi *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae* hasil seleksi *in vitro* dengan asam fusarat. *Prosiding Seminar Nasional: "Pengendalian Penyakit Pada Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan"*. Perhimpunan Fitopatologi Indonesia Komda Joglosemar-Fakultas Pertanian UGM. ISBN 978- 602-71784-0-3./2014 pp 272- 279.

- Phabiola, T.A. dan K. Khalimi. 2012. Pengaruh Aplikasi Formula *Pantoea agglomerans* Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Klorofil Daun Tanaman Stroberi. *Jurnal Agrotrop*. 2(2). pp 125-131.
- Predieri, S. 2001. Mutation inductin and tissue culture in improving fruits. *Plant Cell Tiss. Org. Cult* 64. pp 185- 210.
- Saravanan, T., R. Bhaskaran, and M. Muthusamy. 2004. *Pseudomonas fluorescens* Induced Enzymological Changes in Banana Roots (cv. Rasthali) against *Fusarium* Wilt Disease. *Plant Pathology Journal*. 3. pp 72-80.
- Semangun, H. 1989. *Penyakit- penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sunarjono, H. 2004. *Budidaya Pisang dengan Bibit Kultur Jaringan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Suryanti, Chinta, Y.D., dan Sumardiyono, C. 2009. Pengimbasan Ketahanan Pisang terhadap Penyakit Layu *Fusarium* dengan Asam Salisilat *In Vitro*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 15 (2). pp 90- 95.
- Susilowati, E. 2015. Seleksi Planlet Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) dengan Asam Salisilat secara *In Vitro* terhadap Aktivitas Enzim Peroksidase dan Kandungan Klorofil. (Skripsi). Universitas Lampung.
- Yanti, Y. 2011. Aktivitas Peroksidase Mutan Pisang Kepok dengan *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS) secara *In Vitro*. *Jurnal Natur Indonesia*. 14 (1). pp 32-36.