

**KAJIAN EFEK ASAM SALISILAT TERHADAP KANDUNGAN
KARBOHIDRAT TERLARUT TOTAL DAN KLOOROFIL PLANLET
PISANG KEPOK KUNING (*Musa paradisiaca* L. var. *bluggoe*) DALAM
KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN SECARA *IN VITRO***

Oleh

Jevica Ayu Setia



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

ABSTRAK

KAJIAN EFEK ASAM SALISILAT TERHADAP KANDUNGAN KARBOHIDRAT TERLARUT TOTAL DAN KLOROFIL PLANLET PISANG KEPOK KUNING (*Musa paradisiaca* L. var. *bluggoe*) DALAM KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN SECARA *IN VITRO*

Oleh

Jevica Ayu Setia

Pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca* L. var. *bluggoe*) adalah buah yang populer di Indonesia dan biasanya dikonsumsi baik secara segar maupun dalam bentuk olahan. Permintaan akan pisang meningkat, tetapi masih ada permasalahan dalam budidaya pisang antara lain serangan penyakit dan kurang ketersediaan air. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi toleran asam salisilat dan PEG 6000 yang resisten terhadap cekaman kekeringan serta untuk mengetahui interaksi antara asam salisilat dan PEG. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Desember 2015 sampai Februari 2016 di Laboratorium Botani (ruang penelitian *in vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan dalam percobaan Faktorial 3x3. Faktor A adalah Asam salisilat dengan 3 taraf konsentrasi yaitu 0 ppm, 50 ppm, 60 ppm dan faktor B adalah PEG 6000 (b/v) dengan 3 taraf konsentrasi yaitu 0%, 10%, dan 20% (b/v). Parameter yang diamati adalah kandungan karbohidrat terlarut total dan kandungan klorofil a, b, dan total. Data dianalisis ragam pada taraf nyata 5% dan BNT pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa

1) Konsentrasi Asam salisilat yang toleran untuk seleksi planlet pisang kepok kuning terhadap cekaman kekeringan adalah 50 ppm, 2) Konsentrasi toleran PEG 6000 yang mampu menyeleksi planlet pisang kepok kuning yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro* adalah 10% (b/v), 3) Terdapat interaksi antara asam salisilat dan PEG 6000 terhadap analisis kandungan karbohidrat terlarut total dan analisis kandungan klorofil.

Kata kunci : Pisang kepok kuning, Asam salisilat, PEG 6000, *In vitro*.

**KAJIAN EFEK ASAM SALISILAT TERHADAP KANDUNGAN
KARBOHIDRAT TERLARUT TOTAL DAN KLOOROFIL PLANLET
PISANG KEPOK KUNING (*Musa paradisiaca* L. var. *bluggoe*) DALAM
KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN SECARA *IN VITRO***

Oleh

Jevica Ayu Setia

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

Judul Skripsi : **KAJIAN EFEK ASAM SALISILAT TERHADAP KANDUNGAN KARBOHIDRAT TERLARUT TOTAL DAN KLOROFIL PLANLET PISANG KEPOK KUNING (*Musa paradisiaca* L. var. *bluggoe*) DALAM KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN SECARA *IN VITRO***

Nama Mahasiswa : **Jevica Ayu Setia**

No. Pokok Mahasiswa : 1217021034

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.
NIP 19651031 199203 2 003

Pembimbing II

Ir. Zulkifli, M.Sc.
NIP 19600716 198604 1 001

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 19660605 199103 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: **Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.**

Sekretaris

: **Ir. Zulkifli, M.Sc.**

Penguji

Bukan Pembimbing : **Dra. Martha Lulus Lande, M.P.**

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D.

NIP. 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 27 Juli 2016

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Kalianda, Provinsi Lampung pada tanggal 09 Juli 1993, sebagai anak pertama dari tiga saudara, dari Bapak Hernu A salim dan Ibu Yuliana.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di Taman Kanak-Kanak Masjid Agung Kabupaten Lampung Selatan pada tahun 1998.

Pada tahun 1999 penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Dasar Negeri 1 Way Urang Kabupaten Lampung Selatan. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah pertama di SMP Negeri 1 Kalianda Kabupaten Lampung Selatan pada tahun 2005, dan melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA 1 Kalianda Kabupaten Lampung Selatan pada tahun 2008.

Pada tahun 2012, penulis tercatat sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) tertulis dan penulis memperoleh beasiswa Bidik Misi 2012. Selama menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Unila, Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata

kuliah Botani Umum dan Biologi Umum jurusan Agroteknologi dan Agribisnis, Fisiologi Tumbuhan, Karsinologi, dan Biosistematika Tumbuhan serta Struktur dan Perkembangan Tumbuhan Jurusan Biologi. Penulis juga aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai Anggota Biro Dana dan Usaha 2014-2015.

Pada Tahun 2015, Penulis melaksanakan Kerja Praktik di UPTD Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura Provinsi Lampung dengan judul **“Uji Daya Berkecambah Benih Kacang Panjang (*Vigna Sinensis*) Menggunakan Metode yang Berbeda”**.

MOTTO

*Berangkat dengan penuh
keyakinan*

*Berjalan dengan penuh
keikhlasan*

SANWACANA

Assalamualaikum Wr. Wb.

Puji syukur atas rahmat Allah SWT dengan segala karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan salah satu syarat dalam menempuh pendidikan strata satu atau Sarjana dalam bidang sains yaitu skripsi yang berjudul **“KAJIAN EFEK ASAM SALISILAT TERHADAP KANDUNGAN KARBOHIDRAT TERLARUT TOTAL DAN KLOROFIL PLANLET PISANG KEPOK KUNING (*Musa paradisiaca* L. var. *bluggoe*) DALAM KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN SECARA *IN VITRO*”**.

Dengan terselesaikannya skripsi ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Dr. Endang Nurcahyani M.Si., selaku pembimbing I yang telah begitu sabar membimbing, menasehati, memberikan saran, kritik, serta kepercayaan bagi penulis.
2. Bapak Ir. Zulkifli M.Sc., selaku pembimbing II yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Terimakasih untuk setiap nasihat, saran, dan motivasi yang membangun bagi penulis.
3. Ibu Dra. Martha Lulus Lande, M.P., selaku penguji skripsi dan dosen pembimbing akademik, terimakasih atas bimbingan, saran dan kritik serta

kebersediaannya menjadi pembahas dalam penelitian ini sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

4. Kepala Laboratorium Botani yang telah mengizinkan penulis untuk melaksanakan penelitian ini.
5. Bapak dan ibu Dosen Jurusan Biologi FMIPA Unila terimakasih atas ilmu, bimbingan dan bantuannya kepada penulis.
6. Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
7. Sahabat seperjuangan penelitian kultur jaringan (Imamah, Aul, Lulu, Asri, Abdi, kak Sobran, mbak Christy, mbak Eka, mbak gardis, mbak linda dan mbak rita) terimakasih untuk kerjasama, kebersamaan, dukungan, semangat, saran, kritik, bimbingan dan doa selama menjalani penelitian ini.
8. Karyawan dan staff Laboran Jurusan Biologi serta seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya.
9. Kedua orangtua tercinta, Ayah (Hernu A Salim), Ibu (Yuliana), adik-adik ku tersayang (Ade Putra Utama dan Siska Putri Utami), nenek ku tersayang (Rohaya) serta kesayanganku Muhammad Raffa Pratama dan keluarga besarku terima kasih yang teramat dalam atas doa, kasih sayang, kesabaran, semangat, dan nasehat-nasehatnya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
10. Sahabat terbaikku Ayu, Rika, Uci, Gita, Devi, Apit dan Meri terima kasih telah setia menemani dan memberi dukungan disaat terakhir ini.

11. Sahabat-sahabat dekatku Sheila Puspita Amanda, Arum Asterini, Dewi Nurainya A, dan Choirunisa atas kebersamaan, canda tawa, dan dukungan yang diberikan kepada penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi.
12. Teman-teman Biologi angkatan 2012, Afrisa, Manda, Amal, Catur, Nike, Etika, Faizatin, Puty, Erika, Putri okta, Santi, Welmi, Emil, Dwi, Wina, Mustika, Pepty, Bebi, Laras, Aida, Yelbi, Lutfi, Nora, Lia, Mita, Indi, Meri, Khorik, Popy, Heny, Linda, Agustina, Huda, Sabrina, Aska Niken, Agung, Olin, Rahma, Ambar, Reni, Nindya, Marli, Sayu, Riza, Dela, Kadek, Apri, Putri, Propal, Luna, terima kasih atas dukungan, bantuan, saran, kritik, canda tawa, dan kebersamaannya untuk penulis.
13. Kakak tingkat 2008, 2009, 2010, adik-adik tingkat 2012, 2013, 2014, 2015 dan seluruh Wadya Ballad HIMBIO yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terima kasih kebersamaan dan pembelajaran yang sangat berarti bagi penulis.
14. Keluarga Besar KKN Kartasari, Kabupaten Tulang Bawang Barat dan kelompok KKN (Jeniffer Pakphan K., Rhenica selvia, Brenda metarani, Hilman dan Heru Nugroho) untuk pengalaman, pembelajaran dan kebersamaannya.
15. Keluarga Besar UPTD Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura Provinsi Lampung terimakasih atas pembelajaran dan pengalaman selama melaksanakan kerja praktik.
16. Almamater Tercinta.

Semoga Allah SWT selalu memberikan hidayah dan barokah kepada semua pihak yang telah membantu penulis. Akhir kata, Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan di dalam penyusunan laporan ini dan jauh dari kesempurnaan,

akan tetapi besar harapan semoga hasil tulisan ini dapat berguna dan bermanfaat
bagi kita semua.

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Bandar Lampung, Agustus 2016
Penulis,

Jevica Ayu Setia

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang dan Masalah	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Manfaat Penelitian	5
D. Kerangka Pikir	5
E. Hipotesis	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Tanaman Pisang	8
1. Biologi Pisang	8
2. Morfologi Pisang	10
B. Kultur Jaringan	11
C. Asam Salisilat	12
D. <i>Poly Ethylene Glycol</i> (PEG)	13
E. Cekaman Kekeringan	14
F. Respon Tumbuhan terhadap Cekaman Kekeringan	15
G. Karbohidrat	16
H. Biosintesis Klorofil	17
III. METODE PENELITIAN	19
A. Waktu dan Tempat	19
B. Alat dan Bahan	19
C. Rancangan Percobaan	20

D. Bagan Alir Penelitian	21
E. Pelaksanaan Penelitian	22
1. Persiapan Medium Seleksi	22
2. Induksi Planlet dengan Asam Salisilat	23
3. Penanaman Planlet dalam Medium Seleksi PEG 6000	23
F. Pengamatan	
1. Persentase Jumlah Planlet yang Hidup	24
2. Visualisasi Planlet.....	24
3. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total	24
4. Analisis Kandungan Klorofil	25
G. Analisis data	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
A. Persentase Jumlah Planlet Hidup dan Visualisasi Planlet	27
B. Kandungan Karbohidrat Terlarut Total.....	30
C. Kandungan Klorofil	33
1. Kandungan Klorofil a.....	33
2. Kandungan Klorofil b.....	35
3. Kandungan Klorofil Total	37
4. Rasio b/a.....	38
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tata Letak Satuan Percobaan	21
2. Persentase Jumlah Planlet Pisang Kepok Kuning yang Hidup	27
3. Persentase dan Visualisasi Planlet Pisang Kepok Kuning	28
4. Rata-rata Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Pisang Kepok Kuning (mg/g jaringan)	30
5. Rata-rata Kandungan Klorofil a Planlet Pisang Kepok Kuning (mg/g jaringan)	33
6. Rata-rata Kandungan Klorofil b Planlet Pisang Kepok Kuning (mg/g jaringan)	35
7. Rata-rata Kandungan Klorofil Total Planlet Pisang Kepok Kuning (mg/g jaringan)	37
8. Rata-rata Kandungan Rasio b/a Planlet Pisang Kepok Kuning (mg/g jaringan)	39
9. Komposisi Medium <i>Murashige dan Skoog</i> (MS)	47
10. Jumlah Planlet Hidup dan Visualisasi Planlet Per-Minggu	49
11. Rata-rata, Standar Deviasi, Ragam, Standar Error, dan Koefisien Keragaman Kandungan Karbohidrat Terlarut Total	51
12. Rata-rata, Standar Deviasi, Ragam, Standar Error, dan Koefisien Keragaman Kandungan Klorofil a	52
13. Rata-rata, Standar Deviasi, Ragam, Standar Error, dan Koefisien Keragaman Kandungan Klorofil b	53
14. Rata-rata, Standar Deviasi, Ragam, Standar Error, dan Koefisien Keragaman Kandungan Klorofil Total	54
15. Rata-rata, Standar Deviasi, Ragam, Standar Error, dan Koefisien Keragaman Rasio b/a	55
16. Analisis Data Kandungan Karbohidrat Terlarut Total	56
17. Analisis Data Kandungan Klorofil a	57
18. Analisis Data Kandungan Klorofil b	58
19. Analisis Data Kandungan Klorofil Total	59
20. Analisis Data Rasio b/a	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Pisang Kepok Kuning (<i>Musa paradisiaca</i> L. var. <i>bluggoe</i>)	9
2. Struktur Asam salisilat	12
3. Struktur <i>Poly Ethylene Glycol</i> (PEG).....	14
4. Struktur Klorofil	18
5. Pertumbuhan Planlet Pisang Kepok Kuning Setelah Umur 2 Minggu.....	29
6. Kurva Interaksi Antara Asam Salisilat dan PEG Terhadap Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet	31
7. Kurva Interaksi Antara Asam Salisilat dan PEG Terhadap Kandungan Klorofil a Planlet	34
8. Kurva Interaksi Antara Asam Salisilat dan PEG Terhadap Kandungan Klorofil b Planlet	36
9. Kurva Interaksi Antara Asam Salisilat dan PEG Terhadap Kandungan Klorofil Total Planlet	38
10. Kurva Interaksi Antara Asam Salisilat dan PEG Terhadap Rasio b/a Planlet	40
11. Bagan Alir Penelitian	48
12. Proses Penanaman Planlet Pisang Kepok Kuning Hasil Induksi Dengan Asam Salisilat Pada Medium MS yang Sudah Di beri PEG 6000 dan Inkubasi.....	61
13. Planlet Pisang Kepok Kuning	61
14. Proses Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total	62
15. Proses Analisis Kandungan Klorofil	63

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang dan Masalah

Pisang adalah buah yang populer di Indonesia dan digemari berbagai lapisan masyarakat. Buah pisang memiliki kandungan nilai gizi yang cukup tinggi untuk memenuhi kebutuhan karbohidrat, vitamin dan mineral. Selain dikonsumsi dalam keadaan segar, pisang juga dapat diolah menjadi berbagai jenis makanan seperti sale pisang, keripik, dan tepung pisang (Ashari, 1995).

Di Indonesia tanaman pisang telah lama dibudidayakan oleh masyarakat dengan tujuan untuk mendapatkan nilai komersial. Lebih dari 230 jenis pisang terdapat di Indonesia. Jenis pisang dikelompokkan menjadi 3 jenis yaitu pisang hias, pisang manila dan pisang buah. Jenis pisang hias antara lain adalah pisang kipas yang biasanya dijadikan tanaman hias. Jenis pisang serat atau manila biasanya dimanfaatkan sebagai bahan baku tekstil dan buahnya tidak dapat dimanfaatkan. Jenis pisang buah termasuk jajaran buah

komersil yang banyak digemari oleh masyarakat untuk dimanfaatkan karena keistimewaan rasa dan aroma buahnya (Cahyono, 2009).

Jenis pisang buah yang ada dipasaran antara lain pisang ambon, pisang kepok, pisang tanduk, pisang raja bulu, pisang barangan, pisang raja, pisang badak. Salah satu jenis pisang yang banyak digemari untuk di konsumsi dalam bentuk olahan adalah pisang kepok. Pisang kepok memiliki banyak jenis, namun yang terkenal karenamemiliki rasa yang lebih enak adalah pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca* L. var. *bluggoe*). Pisang kepok kuning berwarna kekuningan, bertekstur keras dan rasanya lebih manis dibandingkan dengan kepok putih (Prabawati *et al.*, 2008).

Indonesia merupakan salah satu sentra primer keragaman pisang. Pisang sebagai tanaman buah unggul di Indonesia masih memiliki kualitas yang terbatas. Kualitas buah pisang akan mempengaruhi harga dipasaran sehingga perlu upaya penanganan serius agar mampu berkompetisi dengan produk luar negeri. Permasalahan yang ada dalam budidaya pisang antara lain serangan penyakit dan kurang ketersediaan air (Anonymous, 2000).

Menurut Fitter dan Hay (1994), kekurangan air akan mempengaruhi proses-proses biokimia yang berlangsung dalam sel. Kekurangan air berpengaruh terhadap reaksi-reaksi biokimia fotosintesis, sehingga laju fotosintesis menurun. Tersedianya air yang kurang juga akan menghambat

sintesis klorofil pada daun yang diakibatkan laju fotosintesis menurun (Hendriyani dan Nantya, 2009).

Asam salisilat (AS) merupakan signal penting dalam ketahanan tanaman yang biasanya digunakan sebagai pengimbas ketahanan terhadap penyakit (Sujatmiko *et al.*, 2012). Pada tumbuhan, terbentuknya asam salisilat merupakan respon terhadap serangan patogen sebagai bentuk pertahanan. Bidabadi *et al.* (2012), melaporkan bahwa penggunaan asam salisilat dapat memperbaiki ketahanan planlet pisang berangan terhadap kondisi cekaman kekeringan. Penggunaan asam salisilat pada medium tanpa *Poly Ethylene Glycol* (PEG) memberikan efek pada peningkatan klorofil secara signifikan, sedangkan penggunaan asam salisilat pada medium PEG level 3% memberikan efek terhadap peningkatan kandungan klorofil dan prolin.

Menurut Savitri (2010), PEG dapat digunakan sebagai komponen penyeleksi yang dapat mensimulasikan cekaman lingkungan. Penggunaan PEG 6000 bertujuan untuk menyeleksi tanaman yang peka terhadap cekaman kekeringan yang dapat digunakan dalam medium cair maupun medium padat. PEG merupakan suatu senyawa kimia yang mengandung aktivitas matriks sub unit etilen oksida yang mampu menurunkan pontensial osmotik dengan mengikat molekul air menggunakan ikatan hidrogen. Ukuran molekul dan konsentrasi PEG mempengaruhi besar kecilnya potensial osmotik yang terjadi (Rahayu *et al.*, 2005).

Seleksi planlet yang toleran PEG 6000 menggunakan teknik *in vitro* dilakukan sebagai upaya untuk mendeteksi secara dini genotip planlet yang resisten terhadap cekaman kekeringan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penggunaan PEG 6000 pada medium sebagai upaya untuk mendeteksi siklus seleksi dalam program perbaikan atau perakitan varietas yang memiliki toleransi kekeringan.

Seleksi *in vitro* telah diteliti dalam menghasilkan tanaman tahan terhadap cekaman kekeringan diantaranya tanaman padi hibrida pada konsentrasi 25% dalam larutan PEG 6000, cukup efektif untuk menduga toleransi terhadap kekeringan (Afa *et al.*, 2012); kondisi lapangan dengan kapasitas 100% pada berbagai varietas nilam menghasilkan tanaman nilam yang resisten yaitu pada varietas Girilaya (*Pogostemon heyneanus* Benth) (Djazuli, 2010), dan uji kualitatif kandungan metabolit sekunder kalus batang terjadi penurunan berat basah kalus yang signifikan pada pemberian 5% PEG (Zulhilmi *et al.*, 2012).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh asam salisilat sehingga dapat mengurangi kerusakan dari cekaman kekeringan yang distimulan oleh PEG pada planlet pisang kepok kuning secara *in vitro*.

B. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui konsentrasi asam salisilat yang toleran untuk seleksi planlet pisang kepok kuning yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.
2. Mengetahui konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk seleksi planlet pisang kepok kuning yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.
3. Mengetahui interaksi asam salisilat dan PEG 6000 terhadap kandungan karbohidrat terlarut total dan klorofil pada planlet pisang kepok kuning.

C. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai penggunaan asam salisilat untuk memperbaiki ketahanan planlet pisang kepok kuning dengan stimulasi cekaman kekeringan menggunakan PEG 6000. Planlet yang resisten terhadap cekaman kekeringan diharapkan dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang pemuliaan tanaman, dan ilmu terapan yang terkait.

D. Kerangka Pikir

Pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca* L.var.*bluggoe*) merupakan salah satu buah primadona yang memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi. Indonesia memiliki dua musim yaitu musim hujan dan musim kemarau. Musim

kemarau yang terjadi di Indonesia biasa berlangsung lama sehingga menyebabkan terjadi kekeringan pada tanaman, salah satunya mengakibatkan penurunan produksi pisang.

Teknik in vitro merupakan teknik yang digunakan sebagai upaya dalam memperbaiki karakter dan ketahanan tanaman. Asam salisilat adalah komponen jalur transduksi yang dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit. Asam salisilat dikenal dapat mempengaruhi berbagai respon fisiologis dan biokimia tanaman dan mempunyai peran penting dalam mengatur pertumbuhan serta produktivitasnya. Berdasarkan penelitian Susilowati (2015), melaporkan bahwa kisaran asam salisilat yang toleran untuk seleksi *Phalaenopsis amabilis* secara *in vitro* adalah 15-60 ppm, sementara Bidabadi *et al* (2012), melaporkan bahwa penggunaan asam salisilat pada medium tanpa PEG memberikan efek pada peningkatan klorofil secara signifikan, sedangkan penggunaan asam salisilat pada medium PEG level 3% memberikan efek terhadap peningkatan kandungan klorofil dan kandungan prolin.

Poly Ethylene Glycol (PEG) merupakan senyawa yang dapat menstimulasikan keadaan stres dengan menurunkan potensial air yang ada di lingkungan sehingga berhubungan dengan penurunan tekanan hidrostatik dalam sel (Oertli, 1985). Beberapa penelitian menyatakan penggunaan PEG 6000 pada medium sebagai agen seleksi dalam seleksi *in vitro* mempunyai tingkat resistensi terhadap kekeringan pada tingkat lapangan. Pendekatan

seleksi *in vitro* yang telah menghasilkan varietas tanaman yang tahan terhadap kekeringan diantaranya tanaman kacang tanah (Yudiwanti *et al.*, 2008), kalus batang (Zulhilmi *et al.*, 2012), serta tanaman sorghum (Tsago *et al.*, 2013).

E. Hipotesis

1. Terdapat konsentrasi asam salisilat yang toleran untuk seleksi planlet pisang kepok kuning yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.
2. Terdapat konsentrasi PEG6000 yang toleran untuk seleksi planlet pisang kepok kuning yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.
3. Terdapat interaksi antara asam salisilat dan PEG 6000 yang optimum terhadap kandungan karbohidrat terlarut total dan kandungan klorofil planlet pisang kepok kuning.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Pisang

1. Biologi pisang

Umumnya pisang dapat tumbuh di daerah tropika dan sub tropika. Tanaman ini mampu hidup pada dataran rendah maupun dataran tinggi lebih dari 1600 meter di atas permukaan laut, serta mampu hidup pada suhu 27 °C sampai maksimum 38 °C, pH keasaman tanah 4,7-7,5 dengan curah hujan antara 2000-2500 mm/tahun (Anonymous, 2008).

Buah pisang selain banyak dikonsumsi sebagai buah meja (segar), juga dapat dibuat beberapa macam produk olahan, seperti tepung, sale, dan keripik.

Salah satu jenis pisang yang banyak digunakan untuk produk olahan adalah pisang jenis kepok, sedangkan untuk buah yang biasa dikonsumsi segar pada umumnya diolah jika nilai ekonominya sudah menurun seperti halnya buah pisang yang bentuknya kurang baik, ukurannya kecil, kulit buah cacat sehingga tidak mungkin disajikan sebagai buah meja (Cahyono, 2009).

Pisang kepok kuning adalah salah satu varietas buah pisang unggul di Indonesia. Bentuk buahnya agak pipih karenanya sering disebut pisang gepeng dan memiliki kulit tebal. Berat per tandan dapat mencapai

22 kg memiliki 10-16 sisir. Setiap sisir terdiri dari 12-20 buah. Bila matang warna kulit buahnya kuning penuh. Kepok kuning memiliki daging buah berwarna kuning dan rasanya lebih manis dari kepok putih (Prabawati *et al.*, 2008).

Menurut Satuhu dan Supriyadi (2008), tanaman pisang kepok kuning diklasifikasikan sebagai berikut.

Divisio : Magnoliophyta
Classis : Liliopsida
Ordo : Zingiberales
Familia : Musaceae
Genus : Musa
Species : *Musa paradisiaca* L. var. *bluggoe*



(A)



(B)

Gambar 1. Tanaman pisang kepok kuning, A). Habitus pisang kepok kuning (Anonymous, 2015), B). Buah pisang kepok kuning (Foto Setia, diambil di Rajabasa, Lampung, 2016)

2. Morfologi pisang

Tanaman pisang termasuk kedalam tanaman herba tahunan. Pisang berakar serabut dan tidak memiliki akar tunggang. Akar-akar serabut tersebut tumbuh pada umbi batang bagian bawah. Panjang akar berkisar antara 0,75 sampai 1,5 meter dan sebagian besar dari akar tanaman pisang itu tumbuh kesamping bonggol yang panjangnya antara 4 sampai 5 meter (Suhardiman, 1997).

Menurut Widyastuti dan Paimin (1993), pisang memiliki batang semu yang terbentuk dari pelepah daun yang saling menutup dengan kompak dengan ukuran tinggi batang berkisar 2,5 sampai 7,5 meter. Batang pisang sebenarnya terletak dalam tanah berupa umbi batang. Dibagian atas umbi batang terdapat titik tumbuh yang menghasilkan daun dan pada suatu saat akan tumbuh bunga pisang (jantung), sedangkan yang berdiri tegak di dalam tanah yang biasanya dianggap batang itu adalah batang semu (Tjitrosoepomo, 1991).

Daun pisang letaknya tersebar. Helaian daun berbentuk lanset memanjang, dan mudah sekali robek oleh hembusan angin yang keras karena tidak mempunyai tulang-tulang pinggir yang menguatkan lembaran daun. Pada pucuk tengah batang semu akan muncul daun baru yang menggulung dan akan terus memanjang keluar dari tengah batang semu membentuk kanopi-kanopi daun pisang (Ashari, 1995).

Bunga pisang memiliki kuncup bunga yang dibungkus oleh seludang berwarna merah kecokelatan, apabila bunga telah membuka akan jatuh ke tanah. Bunga jantan berkembang secara tidak normal dan bunga betina akan berkembang secara normal. Bunga berkelamin satu, berumah satu dan tersusun dalam tandan. Daun pelindung berukuran panjang 10 – 25 cm, berwarna merah tua, berlilin, dan mudah rontok. Bunga tersusun dalam dua baris yang melintang. Bakal buah berbentuk persegi, sedangkan bunga jantan tidak ada. Setelah bunga keluar, bunga membentuk sisir pertama, kedua dan seterusnya (Satuhu & Supriyadi, 2008).

B. Kultur jaringan

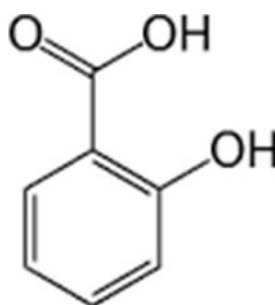
Perbanyakan tanaman secara *in vitro* secara vegetatif adalah upaya alternatif dalam mendapatkan tanaman baru yang sama dengan induknya yang dikenal sebagai teknik kultur jaringan. Sistem kultur jaringan mempunyai keuntungan yaitu menghemat tenaga, waktu, tempat serta biaya (Nugroho & Sagito, 2005).

Pelaksanaan kultur jaringan berdasarkan atas teori sel seperti yang dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann yaitu sel mempunyai kemampuan totipotensi. Kemampuan totipotensi merupakan kemampuan tiap sel untuk tumbuh menjadi tanaman yang sempurna bila diletakkan pada lingkungan yang sesuai (Suryowinoto, 1991).

Kultur jaringan pada tumbuhan bertujuan untuk meregenerasikan jaringan kalus, memperbanyak sel, regenerasi tanaman secara keseluruhan dan identifikasi seleksi mutan-mutan alami yang terinduksi secara potensial untuk memperbanyak genotip yang diinginkan. Manfaat pemuliaan tanaman dalam kultur jaringan tumbuhan adalah menciptakan klon-klon tanaman yang efektif dan murah serta bebas dari virus saat diisolasi (Welsh, 1991).

C. Asam Salisilat

Asam salisilat merupakan komponen jalur transduksi yang menyebabkan ketahanan tanaman terhadap beberapa patogen (Ryals *et al.*, 1996). Asam salisilat memiliki rumus molekul C_6H_4COOH berbentuk kristal kecil berwarna merah muda terang, hingga kecokelatan yang memiliki berat molekul sebesar 138, 123 g/mol dengan titik leleh sebesar $156^{\circ}C$ dan densitas pada $25^{\circ}C$ sebesar 1,443 g/ml (Purnomo *et al.*, 2007). Asam salisilat memiliki struktur bangun kimia seperti yang disajikan pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Struktur Asam Salisilat (Fessenden dan Fessenden, 1986)

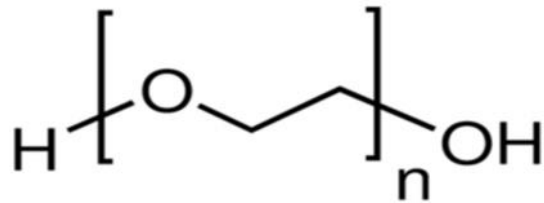
Bahan baku utama dalam pembuatan asam salisilat adalah phenol, NaOH, karbon dioksida dan asam sulfat. Asam salisilat biasanya digunakan sebagai obat-obatan dan sebagai bahan intermediat pada pabrik obat dan pabrik farmasi seperti aspirin (Anonymous, 2014).

Bidabadi *et al.* (2012), melaporkan bahwa penggunaan asam salisilat dapat memperbaiki ketahanan planlet pisang Barangan terhadap kondisi cekaman kekeringan. Penggunaan asam salisilat pada medium tanpa PEG memberikan efek pada peningkatan klorofil secara signifikan, sedangkan penggunaan asam salisilat pada medium PEG level 3% memberikan efek terhadap peningkatan kandungan klorofil dan kandungan prolin.

D. *Poly Ethylene Glycol (PEG)*

Menurut Oertli (1985), *Poly Ethylene Glycol (PEG)* merupakan senyawa yang dapat menstimulasikan keadaan stres dengan menurunkan potensial air yang ada di lingkungan sehingga berhubungan dengan penurunan tekanan hidrostatik dalam sel. Potensial air merupakan kemampuan air untuk melakukan difusi yang menggambarkan energi bebas air yang terdapat dalam sel atau jaringan tumbuhan. Senyawa PEG juga bersifat larut dalam air dan dapat menyebabkan penurunan potensial air yang homogen dengan cara menarik molekul air (H_2O) menuju atom oksigen pada sub unit etilen oksida melalui ikatan hidrogen (Afa *et al.*, 2012).

Struktur bangun kimia PEG 6000 di sajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur *Poly Ethylene Glycol* (Anonymous, 2015).

Poly Ethylene Glycol 6000 memiliki struktur bentuk padat, berwarna putih, suhu lebur 55-63 °C, berat molekul 6000-7000, dan komposit polimer karbon 0,082 mho. PEG 6000 menunjukkan konduktivitas paling besar sebelum penambahan uap etanol 90% hasil komposit polimer karbon (Gunawan dan Azhari, 2010). Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam penggunaan PEG antara lain toksisitas, sifat PEG, kadar PEG optimal dan PEG yang terbaik. Penggunaan 41 % PEG 6000 bagi tumbuh-tumbuhan umumnya bersifat toksik (Suryowinoto, 1996).

E. Cekaman Kekeringan

Metabolisme tanaman tidak dapat berlangsung tanpa adanya air. Tanaman dapat memenuhi kebutuhan air melalui penyerapan oleh akar. Air yang diserap oleh akar tanaman bergantung pada kemampuan partikel tanah menahan air dan kemampuan akar untuk menyerapnya. Cekaman kekeringan dapat menyebabkan perubahan pada metabolisme. Cekaman kekeringan merupakan kondisi dimana minimumnya kadar air dalam tanah yang berhubungan dalam pertumbuhan dan produksi tanaman (Jumin, 1992).

Berdasarkan penelitian Purwanto dan Agustono (2010) pada kapasitas lapang 60%, cekaman kekeringan pada tanaman kedelai mengalami penurunan kandungan klorofil sebesar 7,73%. Sementara itu hasil penelitian Afa, *et al* (2012) menunjukkan bahwa larutan PEG 6000 pada konsentrasi 25% efektif memberikan cekaman kekeringan pada padi hibrida.

F. Respon Tanaman terhadap Cekaman Kekeringan

Respon tanaman pada kondisi kekeringan akan menyesuaikan diri secara fisiologis, biokimia, anatomis dan perubahan morfologis termasuk transisi dalam ekspresi gen. Pada saat terjadi kekeringan, sebagian stomata daun menutup sehingga terjadi hambatan masuknya CO₂ dan menurunkan aktivitas fotosintesis. Cekaman kekeringan selain menghambat aktivitas fotosintesis, juga menghambat sintesis protein dan dinding sel (Salisbury dan Ross, 1995).

Menurut Palupi dan Dedywiryanto (2008), mekanisme ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan adalah dengan cara menghindari kekeringan (*drought avoidance*) yaitu tanaman mempertahankan status air dalam jaringan agar metabolisme tetap berjalan dan toleransi terhadap kekeringan (*drought tolerance*) dimana tanaman tetap dapat melangsungkan metabolismenya pada kondisi status air yang rendah.

Tanaman yang mengalami cekamana kekeringan akan berusaha melakukan perubahan fisiologis sebagai bentuk adaptasinya salah satunya adalah kemampuan mempertahankan tekanan turgor atau penyesuaian osmotik.

Perubahan tekanan turgor akan mempengaruhi proses fisiologis dan biokimia tumbuhan, antara lain dengan mengakumulasi senyawa-senyawa terlarut meliputi gula, asam amino, prolin, dan glisin betain (Khaeran *et al.*, 2008).

G. Karbohidrat

Karbohidrat merupakan senyawa-senyawa yang mengandung unsur : C, H, dan O yang paling banyak terdapat dalam tumbuhan yaitu sekitar 75%.

Karbohidrat adalah karbon yang mengandung sejumlah besar gugus hidroksil.

Karbohidrat paling sederhana bisa berupa aldehid atau berupa keton.

Berdasarkan pengertian diatas berarti diketahui bahwa karbohidrat terdiri atas atom C, H dan O. Adapun rumus umum dari karbohidrat adalah $C_n(H_2O)_n$ (Wiratmaja, 2011).

Karbohidrat adalah bahan yang sangat diperlukan tubuh manusia, hewan, dan tumbuhan di samping lemak dan protein. Senyawa ini dalam jaringan merupakan cadangan makanan atau energi yang disimpan dalam sel.

Sebagian besar karbohidrat yang ditemukan di alam terdapat sebagai polisakarida dengan berat molekul tinggi. Beberapa polisakarida berfungsi sebagai bentuk penyimpan bagi monosakarida, sedangkan yang lain sebagai penyusun struktur di dalam dinding sel dan jaringan pengikat (Manruw, 2010).

Kandungan karbohidrat terlarut total sebagai indikator yang sesuai untuk cekaman kekeringan pada tanaman. Perubahan karbohidrat terlarut total

berpengaruh secara langsung terhadap respon fisiologis seperti fotosintesis, translokasi dan respirasi. Efek dari kandungan terlarut total dapat diamati melalui bagian akar, daun dan batang (Kerepesi dan Galiba, 2000).

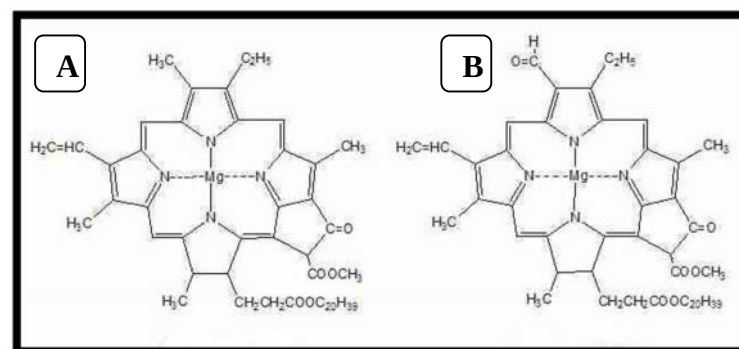
H. Biosintesis Klorofil

Klorofil merupakan molekul yang kompleks dan berfungsi menyerap cahaya, mentransfer energi, dan transfer elektron dalam fotosintesis. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi sintesis klorofil yaitu cahaya, gula, air, karbohidrat, faktor genetik, temperatur, dan unsur-unsur seperti: N, Fe, Mg, Mn, Cu, Zn, S dan Oksigen. Salah satu unsur penting dalam pembentukan klorofil adalah nitrogen sebagai unsur hara makro (Hendriyani dan Nantya, 2009). Umumnya klorofil disintesis pada daun untuk menangkap cahaya dengan jumlah berbeda tergantung faktor lingkungan dan genetik setiap spesies.

Tahap-tahap dalam biosintesis klorofil adalah sebagai berikut: tahap pertama; pembentukan 5-aminolevulinic Acid (ALA), kemudian kondensasi ALA menuju porfobilinogen (PGB) yang pada akhirnya membentuk cincin pirol dan klorofil. Selanjutnya perakitan struktur porphyrin dari 4 molekul PGB yang melibatkan 6 reaksi enzimatis yang menghasilkan protophoryn IX. Tahap selanjutnya dalam biosintesis klorofil adalah pembentukan cincin kelima (cincin E) melalui sirkulasi satu sisi rantai asam propionik menjadi protoklorofil. Jalur ini meliputi reduksi salah satu ikatan ganda pada cincin D

menggunakan NADPH. Tahap akhir dalam biosintesis klorofil adalah penambahan gugus phytol yang dikatalisis oleh klorofil sintetase (Taiz dan zeiger, 1998). 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.

Ada 2 macam klorofil pada tanaman yaitu klorofil a ($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$) berwarna hijau tua dan klorofil b ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$) berwarna hijau muda. Klorofil a dan b merupakan klorofil yang paling kuat menyerap cahaya di bagian merah dengan panjang gelombang 600- 700 nm dan paling sedikit menyerap cahaya hijau dengan panjang gelombang 500- 600 nm, sedangkan cahaya berwarna biru diserap oleh karotenoid (Nio Song dan Banyo, 2011). Berdasarkan rumus empiris klorofil a dan klorofil b perbedaan jumlah atom H dan atom O. Struktur klorofil a dan b disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur klorofil (A). Klorofil a, (B). Klorofil b (Nio Song dan Banyo, 2011).

III. METODE KERJA

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Desember 2015 sampai bulan Februari 2016 di Laboratorium Botani (ruang penelitian *in vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

1. Alat-alat

Alat- alat yang digunakan untuk seleksi planlet pisang kepok kuning secara *in vitro* adalah aluminium foil, *Autoklaf*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF) merk ESCO, pinset, *scalpel*, mata pisau *scalpel*, kertas filter, Erlenmeyer berukuran 50 ml, cawan petri berdiameter 10 cm, corong, botol kultur berukuran 250 ml, gelas ukur bervolume 100 ml dan 500 ml, kertas label, mikroskop, mikropipet, pipet tip, tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan analitik, tisu, *waterbatt*, dan kamera Canon Ixus 265 HS.

Alat-alat yang dipergunakan untuk analisis karbohidrat terlarut total dan klorofil: gunting, timbangan analitik, mikropipet, spektrofotometer, pisau silet, kuvet, alat-alat gelas (pipet ukur, gelas ukur, pipet pasteur, tabung reaksi), mortar dan penumbuk, rak tabung reaksi, dan corong.

2. Bahan-bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah planlet pisang kepok kuning steril dalam botol kultur umur 2 bulan yang diperoleh dari koleksi pribadi Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., alkohol 70%, akuades, *Benzine Amino Purine* (BAP), *Indole-3-Acetic Acid* (IAA), sukrosa, *Plant Preservative Mixture* (PPM), Kalium Hidroksida (KOH), Asam Chlorida (HCl), Asam Salisilat dan bahan kimia medium *Murashige & Skoog* (MS) padat yang komposisinya disajikan dalam Lampiran 1.

Bahan untuk analisis karbohidrat terlarut total yaitu fenol, H_2SO_4 , akuades, batang planlet pisang dan kertas saring Whatman no 1. Bahan analisis klorofil yaitu daun planlet pisang kepok dan aseton 80%.

C. Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian ini disusun dengan pola dasar Rancangan Faktorial 3x3 dengan dua faktor yaitu faktor A: Asam Salisilat dengan 3 taraf konsentrasi yaitu 0 ppm (A1), 50 ppm (A2), 60 ppm (A3) dan faktor B: PEG 6000 b/v dengan 3 taraf konsentrasi yaitu 0% (P1), 10% (P2), dan 20% (P3).

Masing-masing konsentrasi dilakukan 4 kali ulangan dan setiap ulangan

terdiri dari 1 eksplan pisang kepok kuning dalam setiap botol kultur. Tata letak satuan percobaan disajikan pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Tata letak satuan percobaan

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4
A ₁ P ₂	A ₃ P ₁	A ₂ P ₂	A ₁ P ₃
A ₂ P ₃	A ₂ P ₃	A ₃ P ₃	A ₂ P ₁
A ₃ P ₁	A ₁ P ₃	A ₁ P ₁	A ₃ P ₂
A ₁ P ₃	A ₂ P ₂	A ₂ P ₃	A ₁ P ₂
A ₃ P ₂	A ₃ P ₃	A ₁ P ₂	A ₂ P ₃
A ₂ P ₂	A ₁ P ₂	A ₃ P ₁	A ₃ P ₁
A ₃ P ₃	A ₂ P ₁	A ₁ P ₃	A ₁ P ₁
A ₁ P ₃	A ₃ P ₂	A ₂ P ₁	A ₂ P ₂
A ₂ P ₁	A ₁ P ₂	A ₃ P ₂	A ₂ P ₃

Keterangan :

A₁-A₃ : Konsentrasi Asam Salisilat

P₁-P₃ : Konsentrasi PEG

D. Bagan Alir Penelitian

Penelitian terdiri atas beberapa tahap, yaitu: 1) Penentuan kisaran konsentrasi asam salisilat untuk perendaman planlet pisang kepok kuning sebelum penanaman dalam medium, 2) Penanaman planlet pisang kepok kuning umur 2 bulan ke dalam medium MS yang sudah ditambahkan PEG 6000 sesuai konsentrasi, 3) Penentuan kisaran konsentrasi PEG 6000 toleran untuk seleksi planlet pisang kepok kuning secara *in vitro*, 4) analisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet pisang kepok kuning resisten cekaman kekeringan meliputi analisis kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total, serta analisis karbohidrat total terlarut. Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti tercantum pada Lampiran 2.

E. Pelaksanaaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa langkah sebagai berikut.

1. Persiapan medium seleksi

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Murashige & Skoog* (MS) padat. Pembuatan medium tanam MS sebanyak 1 liter adalah dengan cara memipet sejumlah larutan stok (Lampiran 1), kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 1 liter. Akuades ditambahkan sampai tanda (1 liter) dan pH diatur sampai 5,5. Untuk mendapatkan pH 5,5 dilakukan penambahan KOH 1 N atau HCl 1 N. Larutan tersebut kemudian dipindahkan ke dalam wadah yang lebih besar kemudian ditambahkan agar-agar sebanyak 7 g/l, sukrosa 30 g/l, dan PPM 0,5 ml/l. Larutan medium dipanaskan untuk melarutkan agar-agar (sambil diaduk) sampai mendidih. Penambahan ZPT dilakukan setelah larutan medium diangkat, kemudian dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 20 ml/botol. Sterilisasi medium dengan menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5 psi, 121⁰C selama 15 menit.

Medium *Murashige & Skoog* (MS) padat selanjutnya ditambah PEG 6000 dengan konsentrasi 0%, 10%, dan 20% (b/v). Sebelum digunakan, PEG 6000 yang telah dilarutkan dengan akuades pada konsentrasi tertentu disaring menggunakan *syringe filter* yang mempunyai diameter 0,45 µm sebanyak 2 kali, dilanjutkan filter berdiameter 0,22 µm satu kali. Penyaringan dilakukan dalam ruang steril didalam LAF *Cabinet*. Selanjutnya PEG 6000 ditambahkan ke dalam medium MS. Sebelum

digunakan, medium diinkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar (25°C) untuk memastikan bahwa PEG 6000 telah tersaring dengan baik. Apabila dalam waktu 7 hari tidak terjadi kontaminasi pada medium, maka medium dapat digunakan.

2. Induksi planlet dengan asam salisilat

Asam salisilat dilarutkan terlebih dahulu dengan akuades pada konsentrasi tertentu disaring menggunakan *syringe filter* yang mempunyai diameter $0,45\ \mu\text{m}$ sebanyak 2 kali, dilanjutkan filter berdiameter $0,22\ \mu\text{m}$ satu kali. Penyaringan dilakukan dalam ruang steril didalam LAF *Cabinet*. Kemudian asam salisilat diencerkan dengan 3 konsentrasi yaitu 0 ppm, 50 ppm, 60 ppm dan selanjutnya dilakukan perendaman akar planlet pisang kepok selama 2 menit.

3. Penanaman planlet dalam medium seleksi PEG 6000

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-persatu, setelah itu ditanam pada masing-masing botol kultur yang berisi medium perlakuan yang telah ditentukan seperti pada butir 2 di atas. Masing-masing konsentrasi dilakukan 4 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 1 eksplan pisang kepok kuning dalam setiap botol kultur.

F. Pengamatan

1. Persentase jumlah planlet yang hidup

Rumus yang digunakan untuk menghitung jumlah planlet pisang kepok kuning yang hidup yaitu :

$$\frac{\text{Jumlah planlet hidup}}{\text{Jumlah seluruh planlet}} \times 100\% \quad (\text{Nurcahyani et al., 2014})$$

2. Visualisasi planlet

Meliputi warna tunas yang terbentuk dengan klasifikasi sebagai berikut: hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna coklat, coklat.

3. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total

Analisis kandungan karbohidrat terlarut total dilakukan dengan metode Fenol-sulfur (Dubois *et al.*, 1956). Batang planlet pisang kepok kuning diambil sebanyak 0,1 gram. Selanjutnya batang ditumbuk dengan mortar lalu diberi 10 ml akuades, disaring dengan kertas saring Whatman no. 1 lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi.

Selanjutnya filtrat diambil sebanyak 1 ml lalu ditambahkan H_2SO_4 lalu ditambahkan fenol sebanyak 2 ml. Selanjutnya filtrat dimasukkan kedalam kuvet dibaca pada panjang gelombang 490 nm.

Hasil absorbansi larutan standar dibuat persamaan regresi linier sehingga diperoleh persamaan : $Y = ax + b$. Nilai absorbansi sampel

selanjutnya dimasukkan sebagai nilai Y sehingga didapatkan nilai x (μmol).

4. Analisis Kandungan Klorofil

Bahan untuk analisis kandungan klorofil menggunakan daun planlet pisang kepok kuning yang sudah diimbasi dengan PEG 6000, menggunakan metode Harbourn (1987) dengan spektrofotometer. Adapun langkah kerjanya sebagai berikut.

Daun planlet pisang kepok kuning yang seragam sebanyak 0,1 g dihilangkan ibu tulang daunnya, kemudian digerus dengan mortar (*pestle*) dan ditambahkan 10 mL aseton 80%. Setelah itu larutan disaring dengan kertas *Whatmann* No. 1, dan dimasukkan ke dalam flakon serta ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar (aseton 80%) di ambil sebanyak 1 mL, kemudian dimasukkan dalam kuvet. Setelah itu dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang (λ) 646 nm dan 663 nm, dengan ulangan tiap sampel sebanyak 3 kali. Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Klorofil total} = 17,3 \lambda_{646} + 7,18 \lambda_{663} \text{mg/L}$$

$$\text{Klorofil a} = 12,21 \lambda_{663} - 2,81 \lambda_{646} \text{mg/L}$$

$$\text{Klorofil b} = 20,13 \lambda_{646} - 5,03 \lambda_{663} \text{mg/L}$$

(Harbourn , 1987)

G. Anilisa Data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet pisang kepok kuning selama seleksi dengan PEG 6000 berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan di dukung foto.

Data kuantitatif dari setiap parameter dianalisis dengan menggunakan

Analisis Ragam. Analisis ragam dilakukan pada taraf nyata 5% dan uji BNT taraf 5%.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari hasil penelitian ini meliputi:

1. Konsentrasi Asam salisilat yang toleran untuk seleksi planlet pisang kepok kuning resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro* adalah 50 ppm.
2. Konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk seleksi planlet pisang kepok kuning resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro* adalah 10% (b/v)
3. Terdapat interaksi antara asam salisilat dan PEG 6000 terhadap kandungan karbohidrat terlarut total dan kandungan klorofil.

B. Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan untuk analisis parameter yang lain seperti kandungan prolin, indeks stomata, sifat agronomis dan molekular.

DAFTAR PUSTAKA

- Afa LD., Bambang S., Ahmad J., Oteng H., dan Iswari S. 2012. Pendugaan Toleransi Padi Hibrida Terhadap Kekeringan dengan Polytilene Glycol (PEG) 6000. *Jurnal Agrivigor* 11(2) :292-299 ISSN 1412-2286. Hlm. 292.
- Anonymous. 2000. *Pakez Teknologi Pisang*. Jabatan Pertanian Semenanjung Malaysia. Bibilografi.MS 46 ISBN.983.047.075.
- Anonymous. 2008. Teknologi Budidaya Pisang. Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian. *Seri Buku Inovasi*. ISBU : 978-979-1415-27.9.
- Anonymous. 2014. *Asam Salisilat*. <http://en.wikipedia.org/wiki/asam-salisilat>. Diakses 10 Oktober 2015, pukul 10.00 WIB.
- Anonymous. 2015a. *Habitus Pohon Pisang*. <http://www.wikepedia.org/pohon-pisang>. Diakses 19 Oktober 2015, pukul 20.00 WIB.
- Anonymous. 2015b. *Poly Ethylen Glycol*. [http://en.wikipedia.org/wiki/struktur-Poly ethylen glikol](http://en.wikipedia.org/wiki/struktur-Poly_ethylen_glikol). Diakses 20 oktober 2015, pukul 16.30 WIB.
- Ashari S. 1995. *Hortikultur Aspek Budidaya*. Universitas Indonesia (UI Press). Jakarta. Hlm.375-377.
- Bidabadi S. S., Mahmood M., Baninasah B., and Ghobadi C. 2012. Influence of Salicylic Acid on Morphological and Physiologycal Responses of Banana (*Musa acuminata* cv. Berangan, AAA) Shoot Tips to *In Vitro* water Stress Induced by Polyetilene Glycol. *Plant Omics Journal*. POJ 5(1): Hlm. 33-39.
- Cahyono B. 2009. *Pisang Usaha Tani dan Penanganan Pascapanen*. Revisi kedua. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. Hlm. 85.
- 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.

- Dubois, M., Gille, KA. Hamilton, JK, Rebers PA dan Smith, F. 1956. Colometri method for Determination of Sugars and Related Substance. *Anal. Biochem* 28(1956): Hlm. 143-145.
- Fessenden, R. J. And Fessenden, J. S. 1986. *Kimia Organik* Edisi Ketiga Jilid Kedua. Erlangga. Jakarta. Alih Bahasa Pudjaatmaka, A., H. Terjemahan dari : *Organic Chemistry*, Third Edition.
- Fitter, A.H. dan R.K.M. Hay. 1994. *Fisiologi Lingkungan Tanaman*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Gunawan, B., dan Azhari, CD. 2010. Karakterisasi Spektrofotometri dan *Scanning Electron Microcopy* (SEM) Sensor Gas dari Bahan Polimer *Poly-Ethylene-Glycol* (PEG). *Jurnal ISSN* : 1979-6870.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia dan Penurunan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan Oleh Padmawinata K. dan Joediro I. Cetakan ke 2. Penerbit ITB. Bandung, Hlm. 234-244.
- Harni, R., Supramana M., Surya S., Giyanto dan Supriyadi. 2012. Mekanisme Bakteri Endofit Mengendalikan Nematoda *Pratylenchus brachyurus* Pada Tanaman Nilam. *Bul. Litro* 23 (1): Hlm. 102-114.
- Hendriyani I. S. dan Nantya S. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. *Jurnal Sains dan matematika* Vol 17 No. 3. Hlm. 149-1554.
- Herdiawan I. 2013. Pertumbuhan Tanaman Pakan Ternak Legum Pohon *Indigofera zollingeriana* pada Berbagai Taraf Perlakuan Cekaman Kekeringan. *JITV* 18(4): Hlm. 258-264.
- 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.
- Jumin, H.B. 1992. *Ekologi Tanaman Suatu Pendekatan Fisiologi*. Rajawali Press: Jakarta.
- Kerepesi, I dan Galliba, G. 2000. Osmotic and Salt Stress-Induced Alteration in Soluble Carbohydrate Content in Wheat Seedings. *Crop science* 40 (2000): Hlm. 482-287.
- Keyvan, S. 2010. The Effects of Drought Stress on Yield, Relative Water Content, Proline, Soluble Carbohydrates and Chlorophyll of Bread Wheat Cultivars. *Journal of Animal & Plant Sciences* 1(2): Hlm. 62-67.

- Khaerana, M., Ghulamahdi, dan Purwakusumah E. D. 2008. Pengaruh Cekaman Kekeringan dan Umur Panen Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Xanthorrhizal Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) *Bul. Agron.* 36: 241-247.
- Manruw S. 2010. *Pengantar Biokimia*. Universitas Indonesia Press. Jakarta
- Nio Song, A dan Banyo Y. 2011. Konsententrasi Klorofil Daun sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*. Vol 11 No 2.
- Nugroho, A dan Sugito, H. 2005. Pedoman Pelaksanaan Teknik Kultur Jaringan. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Nurchayani, E., Hadisutrisno B., Sumardi, dan 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. Hlm. 272-279.
- Oertli J J.1985. The response of Plant Cells to Different Forms of Moisture stress.*Jurnal of Plant Physiology* volume 121. Hlm. 295–300.
- Palupi E.R dan Dedywiryanto Y. 2008. Kajian Karakter Ketahanan Terhadap Cekaman Kekeringan pada Beberapa Genotipe Bibit Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Bul. Agron.* (36) (1). Hlm. 24 – 32.
- Prabawati S, Suyanti dan Setyabudi D. A. 2008. *Teknologi Pascapanen dan Teknik Pengolahan Buah Pisang*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Hlm. 1-51.
- Purnomo, T.W.S., Kristian R., & Amitra P.S. 2007. Asam Salisilat dari Phenol. Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Banten.
- Purwanto dan Agustono T. 2010. Kajian Fisiologi Tanaman Kedelai pada Cekaman Kekeringan dan Berbagai Kepadatan Gulma Teki. *Agrobisnis* 12 (1): Hlm. 24-28.
- Rahayu ES, Edi G, Satriyas I dan Sudarsono. 2005. *Poly Ethylene Glycol* (PEG) dalam Media *In Vitro* Menyebabkan Kondisi Cekaman yang Menghambat Tunas Kacang Tanah (*Arachis hypogea* L.). *Berk Penel Hayati* : 11 (39-48).
- Ryals J *et al.* 1996. Systemic Acquired Resistance. *Plant Cell*. 8:1809-1819.
- Salisbury F.B dan W.C. Ross.1995.*Fisiologi tumbuhan*. Jilid 1. ITB, Bandung.

- Satuhu, S., dan Supriyadi, A. 2008. Pisang Budidaya, Pengelolaan, dan Prospek Pasar. Penebar Swadaya. Jakarta. Hlm. 40.
- Savitri ES. 2010. Pengujian *In Vitro* Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine max* l. Merr) Toleran Kekeringan Menggunakan *Polyethylene Glycol* (PEG) 6000 pada Media Padat dan Cair. *El-Hayah* Vol. 1 No.2.
- Suhardiman P. 1997. *Budidaya Pisang Cavendish*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. Hlm. 9-18.
- Sujatmiko, B. Sulistyaningsih, E., dan Murti, R.H. 2012. Studi Ketahanan Melon (*Cucumis Melo* L.) Terhadap Layu *Fusarium* Secara *In Vitro* dengan Asam Salisilat. *Ilmu Pertanian*. Vol 15 No.2; Hlm. 1-18.
- Susilowati, E. 2015. Seleksi Planlet Angrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) B.) Dengan Asam salisilat Secara *In Vitro* Terhadap Aktivitas Enzim Peroksidase dan Kandungan Klorofil. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Suryowinoto M. 1991. *Pemuliaan Tanaman secara In Vitro*. Yogyakarta. Kanisius. Hlm. 88-91.
- Suryowinoto M. 1996. *Pemuliaan Tanaman secara In Vitro*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. Hlm.189-190.
- Taiz L dan E. Zieger. 1998. *Plant Plant Physiology* 2nd ed. Sinaeur Associates, Inc. Pub. Sunderland.
- Tjitrosoepomo, G. 1991. *Taksonomi Tumbuhan Spermathopyta*. Gajah Mada Universitas Press. Yogyakarta.
- Tsago Y, Mebeaselassie A., and Takele A.. 2013. In Vitro Screening for Drought Tolerance in Different Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) Moench Varieties. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*. Vol 9 No 3 PP 72-83 ISSN 1997-0838.
- Welsh JR. 1991. *Dasar-Dasar Genetika dan Pemuliaan Tanaman*. Penerbit Erlangga. Jakarta. Alih bahasa Mogeia JP. Hlm. 204-207.
- Widyastuti E.Y dan Paimin F. 1993. Mengenal Buah Unggul Indonesia. PT Penebar Swadaya. Jakarta. Hlm. 188-202.
- Wiratmaja., I. Gede., Kusuma, I Gusti B. W., Winaya dan I Nyoman S. 2011. Pembuatan Etanol Generasi Kedua dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut *Eucheuma cattonii* Sebagai Bahan Baku. *Jurnal ilmiah teknik mesin*. Vol. 5 (1): Hlm. 75-84.

- Yudiwanti , Sudarsono, Purnamawati H., Yusnita, Hapsoro H., Hemon H. A., dan Soenarsih S. 2008. Inovasi Teknologi Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Mendukung Kemandirian Pangan dan Kecukupan Energi. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian *Puslitbangtan, Badan Litbang Pertanian, DEPTAN*. Hlm. 152-161.
- Zulhilmi, Suwirman dan Netty W S. 2012. Pertumbuhan dan Uji Kualitatif Kandungan Metabolit Sekunder Kalus Gatang (*Spilanthus acmell* Murr) dengan Penambahan PEG untuk Menginduksi Cekaman Kekeringan. *Jurnal Biologi*. Universitas Andalas (J.BIO.UA) 1 (1): Hlm. 1-8.