

**KARAKTERISASI ANGGREK *Dendrobium* sp. HASIL SELEKSI
IN VITRO DENGAN ASAM FUSARAT**

(Tesis)

Oleh

Elsi Diana



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG**

2022

ABSTRAK

KARAKTERISASI ANGGREK *Dendrobium* sp. HASIL SELEKSI IN VITRO DENGAN ASAM FUSARAT

Oleh

Elsi Diana

Anggrek *Dendrobium* sp. dikenal sebagai tanaman hias yang banyak digemari oleh masyarakat karena anggrek jenis ini memiliki kesegaran bunga yang relatif lama, warna dan bentuk bunganya bervariasi, tangkai bunga lentur sehingga mudah dirangkai, dan produktivitasnya tinggi. Dalam proses pertumbuhannya, anggrek *Dendrobium* sp. dapat terserang penyakit seperti penyakit layu tanaman. Penggunaan senyawa asam fusarat yang dapat menginduksi tanaman sehingga memberikan respon untuk menghambat aktivitas patogen. *Induced resistance* dapat menjadi cara alternatif untuk mendapatkan tanaman yang tahan terhadap penyakit karena tanaman mampu menstimulasi mekanisme resistensi alami. Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi asam fusarat toleran untuk seleksi planlet anggrek *Dendrobium* sp. dengan pertumbuhan optimum dan karakter ekspresi spesifik planlet anggrek *Dendrobium* sp. hasil *induce resistance* berdasarkan kandungan fenol total, kandungan gula reduksi, dan kandungan klorofil total, klorofil a dan klorofil b. Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan satu faktor yaitu konsentrasi akhir asam fusarat dalam medium yang terdiri atas 5 taraf yaitu: 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm. Masing-masing konsentrasi diulang 5 kali dan setiap ulangan terdiri dari 1 eksplan anggrek *Dendrobium* sp. dalam setiap botol kultur. Parameter yang diuji dalam penelitian ini adalah kandungan fenol total, kandungan gula reduksi, dan kandungan klorofil total, klorofil a dan klorofil b. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kandungan fenol total, kandungan gula reduksi, dan kandungan klorofil total, klorofil a dan klorofil b seiring dengan penambahan konsentrasi asam fusarat.

Kata kunci : Asam Fusarat, Fenol, Gula Reduksi, dan Klorofil

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF ORCHID *Dendrobium* sp. SELECTION RESULT *IN VITRO* WITH FUSARIC ACID

By

Elsi Diana

Dendrobium sp. orchid known as an ornamental plant that is much favored by the public because this type of orchid has a relatively long flower freshness, the color and shape of the flowers vary, the flower stalks are flexible so they are easy to assemble, and the productivity is high. In the process of growth, *Dendrobium* sp. can be attacked by diseases such as plant wilt disease. The use of fusaric acid compounds that can induce plants to respond to inhibit pathogen activity. Induced resistance can be an alternative way to get plants that are resistant to disease because plants are able to stimulate natural resistance mechanisms. The purpose of this study was to determine the concentration of tolerant fusaric acid to select *Dendrobium* sp. orchid plantlets with optimal growth and specific expression characters of *Dendrobium* sp. orchid plantlets that induce resistance based on total phenol content, reducing sugar content, and total chlorophyll content, chlorophyll a and chlorophyll b. This research was carried out using a completely randomized design with one factor, namely the final concentration of fusaric acid in the medium consisting of 5 levels, namely: 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm. Each concentration consisted of 5 times and each replication consisted of 1 explant of *Dendrobium* sp. in each culture bottle. The parameters tested in this study were total phenol content, reducing sugar content, and total chlorophyll content, chlorophyll a and chlorophyll b. The results of this study indicated that there was an increase in the total phenol content, reducing sugar content, and total chlorophyll content, chlorophyll a and chlorophyll along with the addition of fusaric acid concentration.

Keywords : Chlorophyll, Fusaric Acid, Phenol, and Reducing Sugar

**KARAKTERISASI ANGGREK *Dendrobium* sp. HASIL SELEKSI
IN VITRO DENGAN ASAM FUSARAT**

Oleh

Elsi Diana

Tesis

**Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
MAGISTER SAINS**

pada

**Program Studi Magister Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Tesis : **KARAKTERISASI ANGGREK
Dendrobium sp. HASIL SELEKSI *IN VITRO*
DENGAN ASAM FUSARAT**

Nama Mahasiswa : **ELSI DIANA**

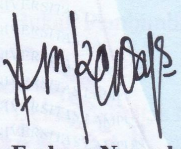
NPM : 2027021009

Program Studi : **Magister Biologi**

Fakultas : **Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam**

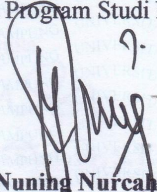
MENYETUJUI

1. **Komisi Pembimbing**


Dr. Endang Nurcahyani, M.Si
NIP. 196510311992032003


Dr. Sumardi, M.S.
NIP. 196503251991031003

2. **Ketua Program Studi Magister Biologi**


Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP. 196603051991032001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

Sekretaris : **Dr. Sumardi, M.S.**

Penguji
Bukan Pembimbing 1 : **Dr. Hardoko Insan Qudus, M.Si**

Bukan Pembimbing 2 : **Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc.**



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Ing. Supto Dwi Yuwono, M.T.
NIP. 197407052000031001



3. Direktur Program Pascasarjana

Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T.
NIP. 197104151998031005

Tanggal Lulus Ujian : 2 Agustus 2022

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Nama yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Elsi Diana

NPM : 2027021009

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain hasil plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 2 Agustus 2022
Pembuat Pernyataan



Elsi Diana
NPM. 2027021009

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Elsi Diana, dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 22 Januari 1997 sebagai anak bungsu dari tiga bersaudara dari Ayahanda Drs. H. Bahder Johan dan Ibunda Hj. Indasari, S.Pd. Penulis mengawali pendidikan Taman Kanak – Kanak di TK Negeri Pembina Bandar Lampung pada tahun 2002 dilanjutkan Sekolah Dasar (SD) di SD Negeri 2 Rawa Laut pada tahun 2003, kemudian Sekolah Menengah Pertama (SMP) di MTs Negeri 1 Tanjung Karang pada tahun 2009 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di MAN 2 Bandar Lampung pada tahun 2012.

Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada tahun 2015 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dan meraih gelar Sarjana Sains (S.Si.) pada tahun 2019.

Pada tahun 2020, penulis melanjutkan pendidikan S2 dan tercatat sebagai mahasiswa Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Bandar Lampung, dan dinyatakan lulus sebagai Magister Biologi (M.Si.) pada tahun 2022

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil alamin, segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala kemudahan, limpahan rahmat dan karunia yang telah diberikan selama ini sehingga karya ini dapat terselesaikan, maka dengan rasa bahagia dan syukur, kupersembahkan karya ini untuk :

- *Kepada diriku sendiri yang telah berjuang melawan ego dan mood serta senantiasa berusaha untuk semangat dalam menyelesaikan tesis ini.*
- *Orangtuaku tersayang, Ibu Hj. Indasari, S.Pd. dan Ayah Drs. H. Bahder Johan atas kasih sayang yang telah diberikan, doa yang terus dipanjatkan, serta motivasi dan nasihat yang telah diberikan agar tetap tabah dan tawakal dalam menuntut ilmu.*
- *Kepada dosen-dosenku yang telah membimbingku hingga saat ini, serta segala limpahan ilmu yang sangat bermanfaat.*
- *Almamater tercinta yang menjadi kebanggaanku, Universitas Lampung.*

MOTTO

Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain), dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap

(Q.S. Al-Insyirah: 6-8)

“..dan berbuat baiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat baik kepadamu..”

(Q.S. Al-Qasas : 77)

SANWACANA

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Alhamdulillah Puji Syukur penulis ucapkan atas kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat – Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah menjelaskan tentang isi kandungan Al- Qur'an sebagai petunjuk jalan menuju kebahagiaan hidup di dunia dan di akhirat kelak.

Tesis yang berjudul “**KARAKTERISASI ANGGREK *Dendrobium sp.* HASIL SELEKSI *IN VITRO* DENGAN ASAM FUSARAT**”

Dengan terselesaikannya tesis ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Karomani, M.Si. selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T. selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
4. Orangtuaku tersayang, Ibu Hj. Indasari, S.Pd. dan Ayah Drs. H. Bahder Johan atas kasih sayang yang telah diberikan, doa yang terus dipanjatkan, serta motivasi dan nasihat yang telah diberikan agar tetap tabah dan tawakal dalam menuntut ilmu.

5. Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., selaku pembimbing I yang telah memberikan ilmu, sabar dalam membimbing, menasehati, memberikan pengarahan, saran, dan kritik serta motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan tesis.
6. Bapak Dr. Sumardi, M.S., selaku pembimbing II yang telah membimbing, memberikan ilmu, memberikan saran dan kritik kepada penulis dalam menyelesaikan tesis.
7. Bapak Dr. Hardoko Insan Qudus, M.Si., selaku Dosen Pembahas I yang telah banyak memberikan banyak bimbingan, saran, dan kritik, koreksi, serta masukkan kepada penulis selama proses penyusunan tesis ini.
8. Bapak Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc., selaku Dosen Pembahas II yang telah banyak memberikan banyak bimbingan, saran, dan kritik, koreksi, serta masukkan kepada penulis selama proses penyusunan tesis ini.
9. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Si., selaku Ketua Prodi Magister Biologi FMIPA Universitas Lampung.
10. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
11. Bapak dan Ibu Dosen serta segenap karyawan di Magister Biologi atas ilmu, bimbingan dan bantuannya kepada penulis.
12. Teman – teman Magister Biologi angkatan 2020 dan teman – teman sepenelitian kultur jaringan tumbuhan atas ilmu, keakraban, canda tawa, dukungan dan kebersamaannya selama ini.
13. Almamater Tercinta, Universitas Lampung.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan di dalam penyusunan tesis ini dan jauh dari kata sempurna, semoga tesis yang sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita. Aamiin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Bandar Lampung, Agustus 2022

Penulis

Elsi Diana

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang dan Masalah	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
1.4 Kerangka Pikir.....	3
1.5 Hipotesis.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Anggrek <i>Dendrobium</i> sp.	5
2.2 Asam Fusarat.....	7
2.3 Ketahanan Terimbas (<i>Induced Resistance</i>)	8
2.4 Perbanyak Secara <i>In Vitro</i>	9
2.5 Biosintesis Klorofil	10
2.6 Gula Reduksi.....	12
2.7 Senyawa Fenol	13
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu	15
3.2 Alat dan Bahan.....	15
3.2.1 Alat – Alat Penelitian.....	15
3.2.2 Bahan – Bahan Penelitian	15
3.3 Rancangan Penelitian	16
3.4 Pelaksanaan Penelitian	16
3.4.1 Penanaman Planlet <i>Dendrobium</i> sp. Dalam Medium VW yang Sudah Diberi Asam Fusarat	18
3.4.2 Seleksi Planlet <i>Dendrobium</i> sp. Dengan AF Pada Berbagai Konsentrasi.....	19

3.5	Karakterisasi Planlet <i>Dendrobium</i> sp.....	19
3.5.1	Analisis Fenol Total.....	19
3.5.2	Analisis Kandungan Gula Reduksi.....	21
3.5.3	Analisis Kandungan Klorofil.....	22
3.6	Analisis Data.....	23

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Persentase Jumlah Planlet Hidup.....	24
4.2	Karakterisasi Planlet <i>Dendrobium</i> sp.....	27
4.2.1	Analisis Kandungan Fenol Total.....	27
4.2.2	Analisis Kandungan Gula Reduksi.....	30
4.2.3	Analisis Kandungan Klorofil.....	33

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1	Kesimpulan.....	36
5.2	Saran.....	36

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Persentase Jumlah Planlet Hidup Hasil Seleksi Asam Fusarat.....	24
Tabel 2. Persentase Visualisasi Planlet Hasil Seleksi dengan Asam Fusarat.....	25
Tabel 3. Perbandingan Konsentrasi Asam Galat dan Absorbansi.....	27
Tabel 4. Hasil Karakterisasi Fenol Total Planlet <i>Dendrobium</i> sp. yang Telah diinduksi AF.....	28
Tabel 5. Perbandingan Konsentrasi Gula Reduksi dan Absorbansi.....	31
Tabel 6. Hasil Karakterisasi Kandungan Gula Reduksi Planlet <i>Dendrobium</i> sp. yang Telah Diinduksi AF.....	32
Tabel 7. Hasil Kandungan Klorofil Planlet <i>Dendrobium</i> sp. yang Telah Diinduksi AF.....	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Morfologi Anggrek <i>Dendrobium</i> sp.....	6
Gambar 2. Struktur Kimia Asam Fusarat.....	7
Gambar 3. Struktur Kimia Klorofil a	11
Gambar 4. Struktur Kimia Klorofil b.....	11
Gambar 5. Struktur Kimia Gula Reduksi.....	12
Gambar 6. Reaksi Glukosa dengan Pereaksi Nelson	13
Gambar 7. Struktur Kimia Fenol.....	14
Gambar 8. Bagan Alir Pelaksanaan Penelitian Anggrek <i>Dendrobium</i> sp.....	17
Gambar 9. Perkembangan Planlet <i>Dendrobium</i> sp. Setelah 4 Minggu dengan Pemberian Berbagai Konsentrasi AF	26
Gambar 10. Kurva Standar Fenol Total	28
Gambar 11. Hubungan Antara Perlakuan Asam Fusarat Dengan Kandungan Fenol Total	29
Gambar 12. Reaksi Senyawa Fenol dengan Pereaksi Follin-Ciocalteau	30
Gambar 13. Kurva Kalibrasi Gula Reduksi	31
Gambar 14. Hubungan Antara Perlakuan Asam Fusarat Dengan Kandungan Gula Reduksi	32

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Anggrek merupakan tanaman hias dengan warna bunga yang bervariasi dan indah serta banyak digemari oleh masyarakat. Tanaman anggrek memiliki nilai ekonomis lebih tinggi jika dibandingkan dengan tanaman hias yang lain, baik sebagai bunga potong maupun bunga pot. Keindahan dan kecantikan bunga anggrek membuat tanaman ini disebut "*Queen of Flower*" (Kasutjaningati dan Irawan, 2013).

Tanaman anggrek tergolong ke dalam Family Orchidaceae yang berdasarkan sifat hidupnya terbagi atas 3 yaitu anggrek epifit, anggrek semi epifit maupun anggrek tanah/terrestrial. Epifit adalah jenis tanaman yang hidup dengan cara menempel pada tanaman lain yang tidak merugikan bagi tanaman inang, akarnya menempel dan memiliki akar udara yang digunakan untuk mencari makan (Surtinah dan Mutryarny, 2013). Anggrek semi epifit adalah anggrek yang juga tidak merugikan pohon/tanaman yang ditumpanginya, hanya akar lekatnya berfungsi untuk mencari makan seperti akar udara. Anggrek tanah adalah jenis anggrek yang hidup di atas tanah (Roilan, 2016).

Salah satu jenis anggrek yang banyak diminati oleh masyarakat adalah anggrek *Dendrobium* sp. Anggrek *Dendrobium* sp. memiliki keistimewaan yaitu mudah ditanam, dapat berbunga terus-menerus, memiliki bentuk bunga yang sempurna, warna bunga yang bervariasi, kesegaran bunga tahan lama, berbatang lentur sehingga mudah dirangkai, dan mahkota bunga tidak rontok (Sarwono, 2002).

Menurut Ningsih (2007), bahwa anggrek *Dendrobium* sp. termasuk anggrek simpodial dan bunga berada dalam satu tandan dengan warna beraneka ragam seperti putih, ungu, merah, dan lain-lain.

Perkembangan produksi tanaman anggrek di Indonesia terbilang masih relatif lambat. Rendahnya produktivitas dan kualitas anggrek Indonesia menyebabkan tanaman ini belum dapat bersaing di pasar Internasional (Widiastoety dan Nurmalinda, 2010).

Penggunaan asam fusarat sebagai gen penyeleksi dalam seleksi *in vitro* dapat menghasilkan sel atau jaringan mutan yang insensitif terhadap asam fusarat, sehingga setelah diregenerasikan menjadi tanaman dapat menghasilkan galur yang resisten atau toleran terhadap infeksi patogen (Bouizgarne *et al.*, 2006). Ketahanan terhadap penyakit dapat diperoleh dengan cara pengimbasan ketahanan, yaitu perlakuan (ketahanan terimbasi) dilakukan sebelum infeksi patogen dengan senyawa kimia maupun dengan inokulasi mikroorganisme non-patogenik (Sumardiyono dkk., 2015).

Sejauh ini, pemberian asam fusarat dengan konsentrasi yang toleran belum pernah dilakukan dalam pengimbasan ketahanan planlet anggrek *Dendrobium* sp. oleh sebab itu maka penelitian ini dilakukan.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mengetahui konsentrasi asam fusarat toleran untuk seleksi planlet anggrek *Dendrobium* sp. dengan pertumbuhan optimum.
2. Karakter ekspresi spesifik planlet anggrek *Dendrobium* sp. hasil *induce resistance* dengan asam fusarat berdasarkan kandungan fenol total, kandungan gula reduksi, dan kandungan klorofil total, klorofil a klorofil b.

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai tahapan untuk menghasilkan planlet anggrek *Dendrobium* sp. yang tahan, sehingga dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan kepada masyarakat terutama petani anggrek dan bidang pemuliaan dan penyakit tanaman.

1.4 Kerangka Pikir

Anggrek *Dendrobium* sp. banyak digunakan dalam rangkaian bunga karena memiliki kesegaran yang relatif lama, warna dan bentuk bunganya bervariasi, tangkai bunga lentur sehingga mudah dirangkai, dan produktivitasnya tinggi. Kultivar yang tahan dapat diperoleh dengan metode seleksi *in vitro*. Metode ini efektif dalam penyediaan bibit tanaman dalam jumlah banyak dan seragam serta waktu yang dibutuhkan relatif singkat. Keberhasilan dalam teknik *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor yang meliputi media kultur, eksplan, lingkungan kultur yang aseptik dan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan.

Senyawa toksin yaitu asam fusarat yang dapat menginduksi tanaman sehingga memberikan respon untuk menghambat aktivitas patogen dengan memproduksi senyawa fitoaleksin. Ketahanan terimbis (*induced resistance*) adalah ketahanan suatu tanaman yang terekspresi setelah mendapat serangan dari patogen. *Induced resistance* dapat menjadi cara alternatif untuk mendapatkan tanaman yang tahan terhadap penyakit karena tanaman mampu menstimulasi mekanisme resistensi alami.

1.5 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini sebagai berikut.

1. Terdapat kriteria konsentrasi asam fusarat yang toleran terhadap planlet anggrek *Dendrobium* sp.
2. Terdapat karakter ekspresi spesifik planlet *Dendrobium* sp. hasil *induce resistance* dengan asam fusarat berdasarkan kandungan fenol total, kandungan gula reduksi, kandungan klorofil total, klorofil a, dan klorofil b.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Anggrek *Dendrobium* sp.

Anggrek merupakan salah satu tanaman yang sangat digemari oleh masyarakat karena memiliki warna dan jenis yang beragam. Salah satu jenis anggrek yang banyak digemari adalah anggrek *Dendrobium* sp. Menurut Dressler dan Dodson (2000) dalam Widiastoety dkk., (2010), klasifikasi anggrek *Dendrobium* sp. sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Superdivision : Spermatophyta
Division : Magnoliophyta
Class : Liliopsida
Order : Orchidales
Family : Orchidaceae
Genus : *Dendrobium*
Species : *Dendrobium* sp.

Darmono (2008) menjelaskan bahwa tanaman anggrek memiliki batang yang beragam yaitu ada yang ramping, gemuk berdaging seluruhnya atau menebal dibagian tertentu saja, dengan atau tanpa umbi semua (*pseudobulb*).

Berdasarkan pertumbuhannya, batang tanaman anggrek dibagi menjadi dua tipe yaitu tipe monopodial dan simpodial. Anggrek *Dendrobium* sp. memiliki tipe batang simpodial, yaitu memiliki batang utama dan berumbi semudengan pertumbuhan ujung batang yang terbatas. Pertumbuhan batang akan berhenti

dengan pertumbuhan ujung batang yang terbatas. Pertumbuhan batang akan berhenti jika mencapai ukuran maksimal dan pertumbuhan baru dilanjutkan oleh tunas anakan yang tumbuh disampingnya. Tipe simpodial akan mengeluarkan bunga dari ujung batang dan akan berbunga kembali pada pertumbuhan anakan atau tunas baru (Andriyani, 2017). Morfologi anggrek *Dendrobium* sp. disajikan pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Morfologi Anggrek *Dendrobium* sp.
(Sumber: Orchidspecies.com, 2022)

Daun anggrek *Dendrobium* sp. memiliki bentuk bulat memanjang dengan tebal daun sangat beragam mulai dari tipis, berdaging, kaku, dan permukaannya rata. Susunan daun pada anggrek *Dendrobium* sp. berseling-seling atau berhadapan dan warna daun bervariasi mulai dari berwarna hijau muda hingga kekuningan serta ada yang terdapat bercak – bercak (Andriyani, 2017). Bunga anggrek tersusun dalam karangan bunga, jumlah kuntum bunga pada satu karangan dapat terdiri dari satu sampai banyak kuntum. Karangan bunga pada beberapa spesies letaknya terminal, sedangkan pada sebagian besar letaknya aksilar. Anggrek *Dendrobium* sp. memiliki beberapa bagian utama yaitu sepal (daun kelopak), petal (daun mahkota), stamen (benang sari), pistil (putik), dan ovarium (bakal buah) (Andiani, 2016).

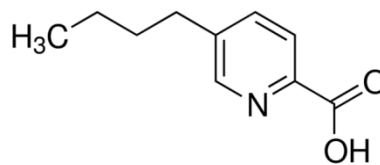
Umumnya, akar anggrek *Dendrobium* sp. mempunyai bentuk yang silindris, berdaging, lunak, mudah patah, bagian ujung akar meruncing, licin, dan sedikit lengket. Dalam keadaan kering, akar tampak berwarna putih keperak-

perakan dan hanya bagian ujung akar saja yang berwarna hijau atau tampak agak keunguan. Akar yang sudah tua akan berwarna coklat tua dan kering, akar-akar yang sudah kering dan mati akan digantikan oleh akar yang baru tumbuh (Andriyani, 2017)

2.2 Asam Fusarat

Asam fusarat (AF) merupakan senyawa toksin non-spesifik yang diproduksi oleh sejumlah spesies *Fusarium*. AF dapat menyebabkan bintik-bintik nekrotik pada daun, pengerutan dan pengeringan daun, dan layu batang dan tangkai daun tanaman tomat (Singh *et al.*, 2017).

Ketahanan tanaman dapat dibentuk melalui induksi senyawa asam fusarat (AF). Asam fusarat akan lebih efektif dengan dosis rendah yaitu pada konsentrasi AF non-toksik sehingga tanaman akan memberikan respon ketahanan dengan memproduksi fitoaleksin untuk menghambat aktivitas patogen. Salah satu senyawa fitoaleksin yang di produksi oleh tanaman adalah fenol. Induksi AF juga dapat meningkatkan senyawa H_2O_2 pada medium kultur, H_2O_2 bersifat toksik bagi patogen. Sebaliknya AF pada konsentrasi toksik akan menyebabkan kematian pada tanaman (Bouizgarne *et al.*, 2006). Struktur kimia asam fusarat disajikan pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Struktur Kimia Asam Fusarat

2.3 Ketahanan Terimbas (*Induced Resistance*)

Ketahanan terimbas merupakan ketahanan yang terekspresi pada tanaman setelah terserang patogen, dapat disimpulkan bahwa ketahanan terimbas adalah ketahanan alami yang dimiliki oleh suatu tanaman yang masih bersifat lemah bahkan tidak muncul, namun dapat terekspresikan jika diberi agen pengimbas (Inayati, 2016). Karakter tanaman yang tahan terhadap penyakit dan keragaman genetik dapat diperoleh dengan cara alternatif yaitu *induced resistance*. Ketahanan terhadap penyakit sangat penting bagi tanaman karena dapat mempengaruhi produksi dan kualitas tanaman tersebut. Induksi ketahanan sistemik menyebabkan kondisi fisiologis yang mengatur sistem ketahanan menjadi aktif dan atau menstimulasi mekanisme resistensi alami yang dimiliki oleh tanaman (Hoerussalam *et al.*, 2013).

Agen pengimbas dapat disebut sebagai elisitor mampu menstimulasi dan mengaktifkan respon ketahanan tanaman. Elisitor dapat terbagi atas elisitor biotik dan elisitor abiotik yang dapat memberikan mekanisme pertahanan yang berbeda-beda sehingga penentuan jenis elisitor yang digunakan dan informasi mekanisme ketahanan terhadap suatu patogen sangat diperlukan untuk menjamin keberhasilan pengimbasan ketahanan (Inayati, 2016).

Tanaman elisitor adalah tanaman yang mengandung senyawa biologis dan dapat menyebabkan peningkatan produksi fitoaleksin bila diaplikasikan pada tumbuhan atau kultur sel tumbuhan (Mialoundama *et al.* 2009).

Menurut Campbell *et al.* (2008) proses pembentukan *Induced Resistance* terdiri atas beberapa tahap sebagai berikut :

1. Pengenalan gen untuk gen

Merupakan suatu bentuk resistensi terhadap penyakit yang dimiliki oleh tumbuhan yang melibatkan pengenalan molekul-molekul yang berasal dari patogen oleh produk-produk protein dari gen-gen resisten, sehingga memacu jalur transduksi sinyal yang menyebabkan aktivasi respon-respon pertahanan yang mencakup respons hipersensitif

2. Respon hipersensitif

Merupakan suatu respon pertahanan yang dapat menyebabkan kematian sel dan jaringan daerah yang terkena infeksi patogen, untuk membatasi penyebaran patogen. Respons hipersensitif juga menginduksi produksi Pathogenesis Related - protein (PR-protein), salah satu PR-protein adalah enzim peroksidase yang berperan penting dalam proses lignifikasi, agar tumbuhan resisten terhadap serangan patogen.

PR-protein adalah protein spesifik yang terdapat pada tanaman dan berfungsi untuk mempertahankan kelangsungan hidup tanaman, khususnya dalam menangkal serangan dari patogen yang berbahaya bagi tanaman tersebut. Setiap tanaman akan memberi respon yang spesifik apabila terkena serangan patogen dari luar, dengan jalan meningkatkan sintesis PR-protein (Soedjanaatmadja, 2008).

2.4 Perbanyak Secara *In Vitro*

Kultur jaringan adalah salah satu teknik yang digunakan untuk mendapatkan keragaman genetik tanaman yang meningkat sehingga hasil yang diperoleh adalah sifat-sifat unggul yang diinginkan (Lestari *et al.*, 2009). Kultur jaringan tanaman adalah teknik yang dapat memperbanyak tanaman yang berasal dari sel, jaringan, atau organ pada kondisi yang aseptik secara *in vitro* (Ningsih, 2014).

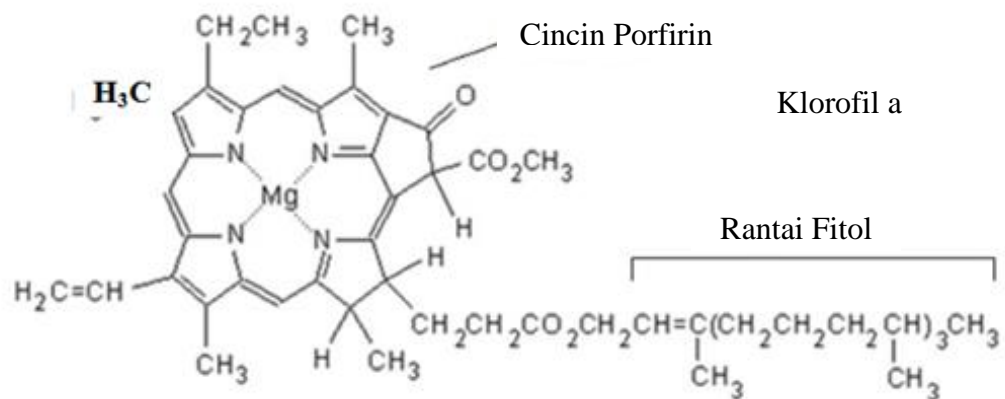
Metode kultur *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor dalam pertumbuhan dan perkembangan sel di antaranya sumber eksplan, media, hormon, lingkungan fisik kultur jaringan dan zat pengatur tumbuh (ZPT). Tujuan kultur *in vitro* adalah untuk memperbanyak tanaman dengan waktu relatif singkat, sebagai langkah dalam pemuliaan tanaman serta menghasilkan jenis tanaman yang diinginkan. Keuntungan dari kultur *in vitro* adalah untuk pengadaan bibit tidak tergantung pada musim, bibit dapat diproduksi dalam waktu yang relatif cepat, bebas dari penyakit dalam jumlah besar dan bibit yang dihasilkan bersifat seragam (Nurheti, 2010). Kultur *in vitro* digunakan

untuk memperbanyak tanaman-tanaman langka yang terancam punah dan sangat sulit untuk dilakukan perbanyakannya secara konvensional, serta untuk memperbanyak tanaman yang memiliki nilai ekonomis tinggi, seperti kentang, pisang, anggrek dan sebagainya (Sjahril, 2011).

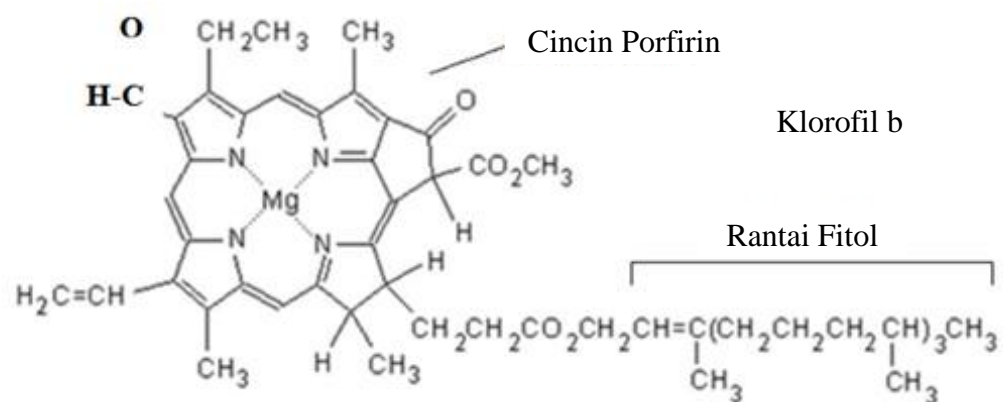
Penggunaan asam fusarat (AF) dapat dilakukan untuk menyeleksi tanaman yang tahan terhadap penyakit layu fusarium. Menurut Nurcahyani dkk. (2012) mengutarakan bahwa AF dapat digunakan pada seleksi *in-vitro* karena AF bersifat patogen terhadap tumbuhan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penambahan asam fusarat pada media sebagai komponen seleksi berkorelasi dengan tingkat ketahanan tanaman terhadap fusarium. Pendekatan seleksi *in-vitro* dilaporkan telah menghasilkan banyak varietas tanaman tahan diantaranya pada tanaman vanili.

2.5 Biosintesis Klorofil

Klorofil merupakan pigmen utama yang berperan dalam reaksi fotokimia pada pusat reaksi fotosintesis. Fungsi utama klorofil di dalam perangkat fotosintesis diantaranya sebagai penyerap cahaya, pentransfer energi eksitasi ke pusat reaksi dan pemisah muatan pada membran fotosintetik (Scheer, 2006). Faktor-faktor yang mempengaruhi biosintesis klorofil antara lain cahaya, gula, air, karbohidrat, faktor genetik, temperatur, dan unsur-unsur hara seperti: N, Fe, Mg, Mn, Cu, Zn, S, dan Oksigen. Nitrogen merupakan unsur hara makro dan merupakan faktor utama pembentukan klorofil. Kekurangan unsur nitrogen pada tanaman menyebabkan gejala klorosis pada daun (Hendriyani dan Nintya, 2009). Beberapa tanaman dalam pembentukan klorofil memerlukan cahaya, sedangkan tanaman lain tidak memerlukan cahaya. Pada tanaman tingkat tinggi, klorofil terdiri atas 2 jenis yaitu klorofil a dan klorofil b. Struktur kimia klorofil a dan klorofil b disajikan pada **Gambar 3** dan **Gambar 4**.



Gambar 3. Struktur kimia klorofil a (Sumber : Gibson, 2004).



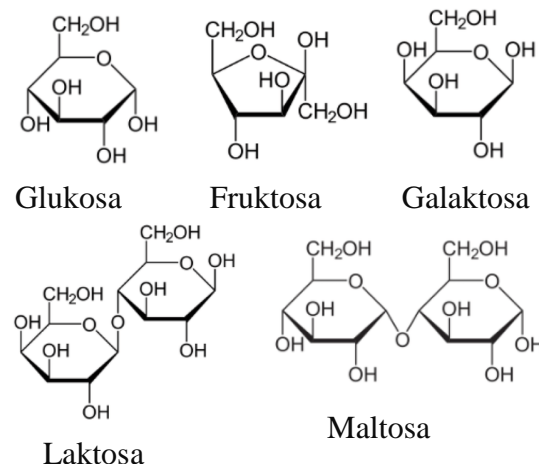
Gambar 4. Struktur kimia klorofil b (Sumber : Gibson, 2004).

Klorofil a dan b paling kuat menyerap cahaya di bagian merah (600-700 nm), sedangkan yang paling sedikit cahaya hijau (500-600 nm). Sedangkan cahaya berwarna biru dari spektrum tersebut diserap oleh karotenoid. Karotenoid ternyata berperan membantu mengabsorpsi cahaya sehingga spektrum matahari dapat dimanfaatkan dengan lebih baik. Energi yang diserap karotenoid diteruskan kepada klorofil-a untuk diserap digunakan dalam proses fotosintesis, demikian pula dengan klorofil-b. Perbedaan klorofil a dan b adalah pada atom C3 terdapat gugusan metil untuk klorofil a dan aldehyd untuk klorofil b. karena itu keduanya mempunyai penyerapan gelombang cahaya yang berbeda. Klorofil mempunyai banyak electron yang mampu berpindah ke orbit eksitasi karena menyerap cahaya (Minsas *et al.*, 2013). Penggunaan pelarut aseton pada klorofil dapat menyebabkan denaturasi protein yang mengikat klorofil sehingga klorofil dapat lepas dari ikatan

protein dan dapat terekstrak dalam pelarut (Fennema, 1996). Klorofil adalah bagian penting dalam tumbuhan, terletak dalam kloroplas dengan jumlah yang banyak dan dapat dengan mudah diekstraksi ke dalam pelarut lipid seperti aseton (Harbourne, 1987).

2.6 Gula Reduksi

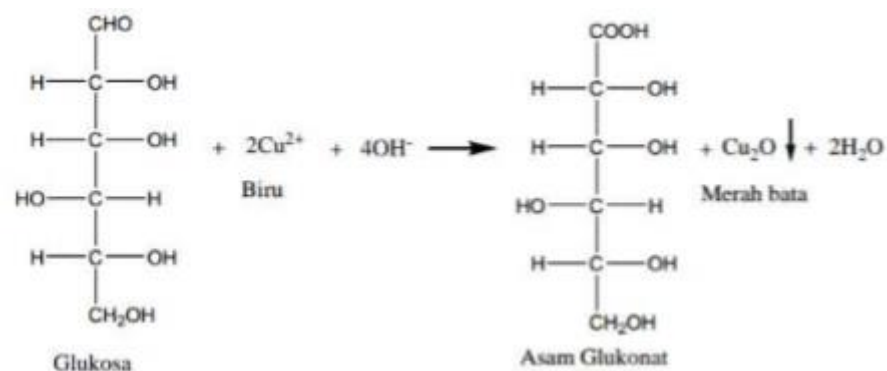
Gula reduksi merupakan golongan gula (karbohidrat) yang dapat mereduksi senyawa-senyawa penerima elektron seperti glukosa dan fruktosa. Ujung dari gula reduksi mengandung gugus aldehida atau keton bebas, yang termasuk ke dalam gula reduksi adalah semua monosakarida (galaktosa, fruktosa, dan glukosa), dan disakarida (maltosa dan laktosa), kecuali sukrosa dan pati (polisakarida). Hasil akhir dari gula reduksi berkaitan dengan aktivitas enzim, karena semakin tinggi gula pereduksi yang dihasilkan maka semakin tinggi aktivitas suatu enzim (Lehninger, 1982). Struktur kimia gula reduksi ditunjukkan pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Struktur Kimia Gula Reduksi (Sumber : Mustafa *et al.*, 2018)

Pada metode Somogyi-Nelson, penambahan reagen nelson berfungsi untuk mereduksi kupri oksida menjadi kupro oksida, reagen nelson juga mengandung K-Na-tartrat yang memiliki fungsi mencegah kupri oksida

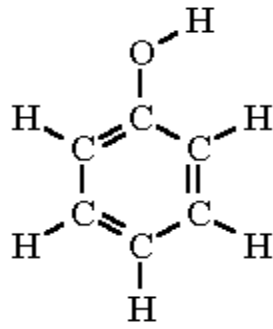
mengendap. Setelah ditambahkan reagen nelson, maka sampel dipanaskan bertujuan untuk mempercepat proses reduksi kupri oksida menjadi kupro oksida. Selanjutnya sampel didinginkan supaya reaksi yang terjadi stabil. Kemudian ditambahkan larutan arsenomolibdat yang bertujuan untuk bereaksi dengan endapan kupro oksida. Pada peristiwa ini kupro oksida akan mereduksi kembali arsenomolibdat menjadi *molibdene blue* yang berwarna biru kehijauan yang nanti diukur absorbansinya dengan spektrofotometer. Reaksi glukosa dengan pereaksi nelson disajikan pada **Gambar 6** (Anggraini dan Damayanti, 2019).



Gambar 6. Reaksi Glukosa Dengan Pereaksi Nelson

2.7 Senyawa Fenol

Fenol adalah suatu senyawa yang mengandung gugus hidroksil (-OH) yang terikat langsung dengan gugus cincin hidrokarbon aromatik. Tumbuhan yang mengandung senyawa fenol digolongkan menjadi fenol sederhana, lignin, asam fenolat, asetofenon, xanton, flavonoid, bioflavonoid kumarin, stilben, asam hidroksi sinamat, tanin, turunan tirosin, dan benzoquinone (Dhianawaty dan Ruslin, 2015). Sifat farmakologi dari senyawa fenolik adalah anti oksidan, anti bakteri dan anti inflamasi. Struktur kimia fenol ditunjukkan pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Struktur Kimia Fenol (Sumber : Purdue University, 2022)

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Botani (ruang penelitian *in vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada bulan September 2021 – Februari 2022.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat – Alat Penelitian

Adapun alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, pinset, *scalpel*, mata pisau *scalpel*, Erlenmeyer berukuran 50 ml, cawan petri berdiameter 10 cm, corong, labu ukur 50 ml, botol kultur berukuran 250 ml, gelas ukur bervolume 50 ml dan 100 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *autoclave*, *Laminar Air Flow* (LAF), mikropipet, pipet tip, spektrofotometri, timbangan analitik Ohaus, *waterbath*, kertas saring, kertas label, tisu, dan kamera hp Realme.

3.2.2 Bahan – Bahan Penelitian

Adapun bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah planlet anggrek *Dendrobium* sp. steril dalam botol kultur yang diperoleh dari koleksi pribadi Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., asam

fusarat murni yang diproduksi oleh *Sigma chemical Co.* {*Fusaric acid (5-butylpicolinic acid) from Giberella fujikuroi*}, alkohol 70 %, akuades, glukosa, *Plant Preservative Mixture* (PPM), Kalium Hidroksida (KOH), Asam Chlorida (HCl), asam galat, Na₂CO₃, methanol, arsenomolibdat, aseton, Follin Ciocalteus dan bahan kimia medium *Vacin and Went* (VW).

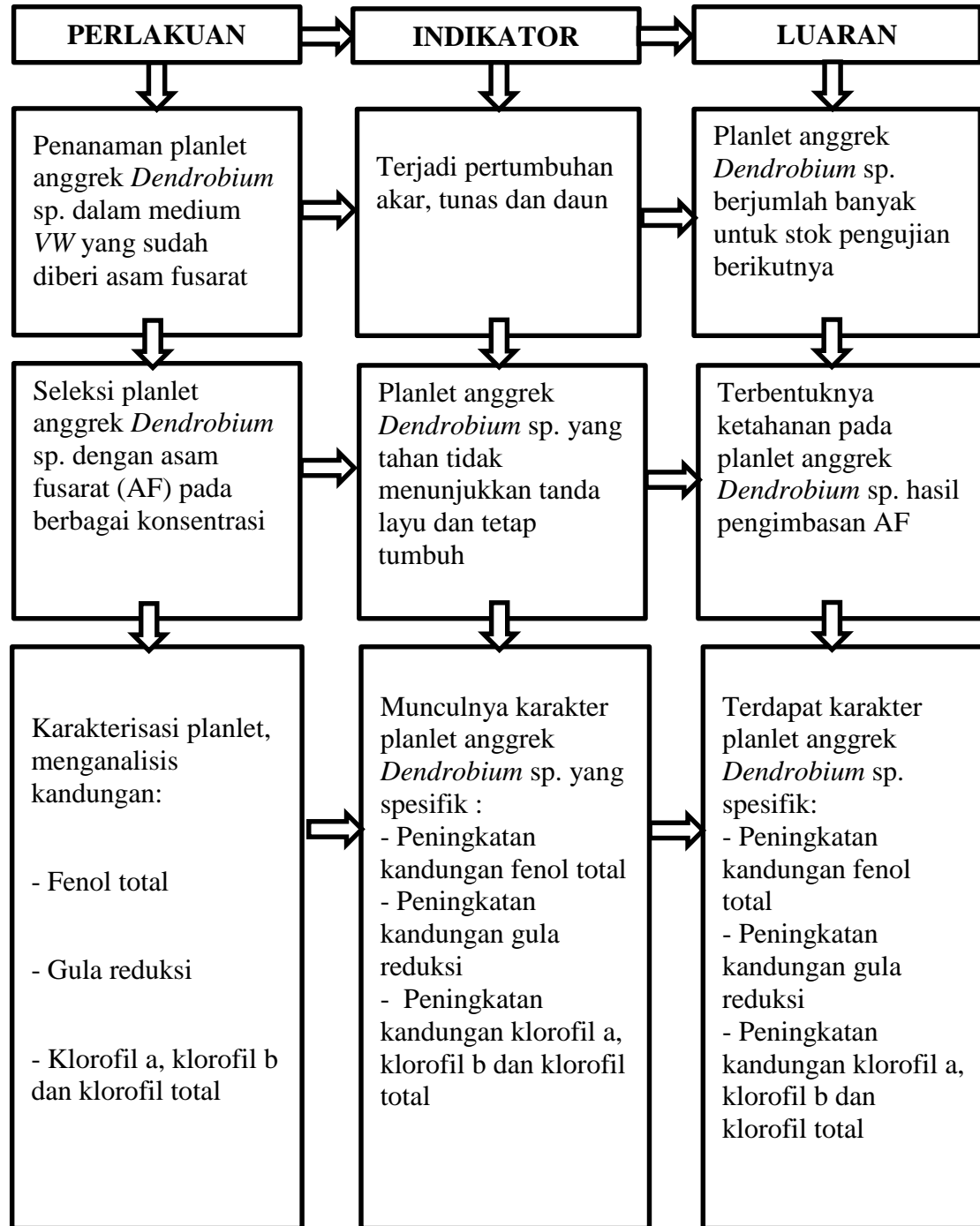
3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu konsentrasi akhir asam fusarat dalam medium yang terdiri atas 5 taraf yaitu: 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm Masing-masing konsentrasi diulang 5 kali dan setiap ulangan terdiri dari 1 eksplan anggrek *Dendrobium* sp. dalam setiap botol kultur. Parameter yang diuji dalam penelitian ini adalah kandungan fenol total, kandungan gula reduksi, dan kandungan klorofil total, klorofil a klorofil b.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini akan terdiri atas beberapa tahap, yaitu: 1) Penanaman planlet anggrek *Dendrobium* sp. kedalam medium VW yang sudah ditambahkan asam fusarat sesuai konsentrasi ;2) Penentuan kisaran konsentrasi asam fusarat toleran untuk seleksi planlet anggrek *Dendrobium* sp. secara *in vitro*. ;3) analisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet anggrek *Dendrobium* sp. meliputi persentase jumlah planlet yang hidup, visualisasi planlet, kandungan fenol total, kandungan gula reduksi, dan kandungan klorofil total, klorofil a klorofil b.

Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti tercantum pada **Gambar 8.** Bagan Alir Pelaksanaan Penelitian Anggrek *Dendrobium* sp.



Gambar 8. Bagan Alir Pelaksanaan Penelitian Anggrek *Dendrobium* sp.

Berikut adalah penjelasan tahapan penelitian yang disajikan pada Gambar Bagan alir penelitian

3.4.1 Penanaman Planlet *Dendrobium sp.* Dalam Medium VW yang Sudah Diberi Asam Fusarat

Medium *Vacin & Went* (VW) pada botol kultur yang telah disterilisasi ditambah asam fusarat (AF) dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol), 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm. Asam fusarat sebelum digunakan, dilarutkan dengan akuades sampai diperoleh konsentrasi yang ditentukan, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Penyaringan dilakukan dalam ruang steril didalam *Laminar Air Flow* (LAF) *Cabinet*. Selanjutnya AF ditambahkan ke dalam medium VW dalam botol kultur yang sudah disterilisasi. Sebelum digunakan, medium diinkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar (25 °C). Apabila dalam waktu 7 hari tidak terjadi kontaminasi pada medium, maka medium dapat digunakan.

Penanaman planlet *Dendrobium sp.* dilakukan dalam ruang steril didalam *Laminar Air Flow* (LAF) *Cabinet*. 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 di atas. Masing-masing konsentrasi dilakukan 5 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 1 eksplan *Dendrobium sp.* dalam setiap botol kultur.

3.4.2 Seleksi Planlet *Dendrobium* sp. Dengan AF Pada Berbagai Konsentrasi

Seleksi planlet dilakukan selama 30 hari. Pada akhir minggu ke-4 dievaluasi untuk mengetahui konsentrasi AF yang toleran untuk seleksi planlet *Dendrobium* sp. secara *in vitro*.

Persentase jumlah planlet yang hidup

Menurut Nurcahyani (2014) untuk menghitung jumlah planlet *Dendrobium* sp. dapat menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah Planlet yang Hidup} = \frac{\text{Jumlah planlet hidup}}{\text{Jumlah seluruh planlet}} \times 100\% \quad (1)$$

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

3.5 Karakterisasi Planlet *Dendrobium* sp.

Karakter planlet anggrek *Dendrobium* sp. hasil induksi asam fusarat dapat ditinjau antara lain dari kandungan fenol total, kandungan gula reduksi, kandungan klorofil total, klorofil a, dan klorofil b.

3.5.1 Analisis Fenol Total

Bahan yang digunakan untuk analisis senyawa fenol menggunakan planlet anggrek *Dendrobium* sp. yang sudah diimbasi asam fusarat dibandingkan dengan kontrol. Menurut (Hardiana dkk, 2012), metode *Folin-Ciocalteu* dapat digunakan untuk menganalisis kandungan senyawa fenol total dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. Penyiapan kurva kalibrasi asam galat dengan Reagen Fenol *Folin-Ciocalteu*

Pembuatan larutan asam galat didalam methanol dengan konsentrasi 300, 400, 500, 600, 700, dan 800 mg/L. dari masing-

masing konsentrasi tersebut dipipet sebanyak 0,2 mL kemudian ditambahkan 15,8 mL akuades dan 1 mL Reagen *Folin-Ciocalteu*. Larutan tersebut dikocok hingga homogen menjadi jernih kekuningan kemudian didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 3 mL larutan Na₂CO 20% lalu dikocok hingga homogen. Larutan tersebut didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang hingga larutan berubah menjadi warna biru. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer Vis pada panjang gelombang 749 nm, kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara asam galat (mg/100g) dengan absorbansi

2. Analisis Kandungan Fenol Total dengan Metode *Folin-Ciocalteu*
Ekstrak daun anggrek *Dendrobium* sp. segar dalam metanol, dari masing-masing larutan ekstrak tersebut dipipet sebanyak 0,2 mL kemudian ditambahkan 15,8 mL akuades dan 1 mL Reagen *Folin-Ciocalteu*. Larutan tersebut dikocok hingga homogen menjadi jernih kekuningan kemudian didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 3 mL larutan Na₂CO₃ 20% lalu dikocok hingga homogen. Larutan tersebut didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang hingga larutan berubah menjadi warna biru. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer Vis pada panjang gelombang 749 nm. Kandungan fenol yang diperoleh merupakan mg ekuivalen asam galat/gram sampel. Hapsari et al., (2018) mengemukakan bahwa perhitungan kandungan fenol total menggunakan

Rumus 2 :

$$\text{Kandungan Fenol Total (mg/100g)} = \frac{X \cdot V \cdot FP}{BS} \quad (2)$$

Keterangan :

- X : Konsentrasi (ppm)
- V : Volume larutan sampel (ekstrak) (mL)
- FP : Faktor pengenceran larutan sampel
- BS : Berat sampel (g)

3.5.2 Analisis Kandungan Gula Reduksi

Analisis kandungan gula reduksi pada penelitian ini menggunakan planlet anggrek *Dendrobium* sp. yang sudah diberi perlakuan asam fusarat dan tanpa perlakuan (kontrol). Menurut Sudarmadji (1984), metode Nelson – Somogyi dapat digunakan untuk menganalisis kandungan gula reduksi dengan langkah – langkah sebagai berikut :

1. Pembuatan Kurva Kalibrasi Gula Reduksi

Pembuatan larutan glukosa standar (12 mg glukosa/120 mL), kemudian dilakukan 6 pengenceran sehingga diperoleh larutan glukosa dengan konsentrasi : 2, 4, 6, 8, 10 dan 12mg/120 mL yang masing – masing larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih, dan 1 tabung diisi akuades sebagai blanko. Kemudian ditambahkan 1 mL reagensia nelson (Nelson A dan Nelson B, dengan perbandingan 2:1) ke dalam masing – masing tabung reaksi. Larutan tersebut dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit. Kemudian larutan tersebut didinginkan di dalam gelas piala yang berisi air dingin sampai suhu tabung mencapai 25°C. Setelah dingin, ditambahkan 1 mL reagensia Arsenomolibdat, kocok sampai semua endapan larut kembali. Setelah larut dan homogen ditambahkan 7 mL akuades, kocok sampai homogen. Larutan diukur menggunakan spektrofotometer Vis dengan panjang gelombang 695 nm, lalu dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi glukosa dengan absorbansi.

2. Penentuan Kandungan Gula Reduksi

Larutan sampel berupa 1 mL ekstrak daun anggrek *Dendrobium* sp. yang diambil dari masing – masing konsentrasi lalu dimasukkan ke dalam masing – masing tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 ml reagensia nelson pada tiap tabung reaksi. Larutan dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit. Kemudian sampel didinginkan sampai mencapai suhu kamar. Setelah dingin, ditambahkan 1 mL reagensia Arsenomolibdat dan 7 mL akuades,

kocok sampai homogen. Campuran larutan tersebut dimasukkan kuvet dan diukur penyerapan cahaya yang tampak (*visible*) dengan panjang gelombang 695 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh dikurangi dengan nilai absorbansi blanko sehingga didapat nilai absorbansi sampel. Kemudian berdasarkan persamaan regresi larutan standar maka nilai absorbansi sampel dikonversikan ke kadar gula reduksi (mg/mL).

Menurut Pujiati (2016) untuk menghitung kadar gula reduksi dapat menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Gula Reduksi (\%)} = \frac{X \cdot FP}{BS} \times 100\% \quad (3)$$

Keterangan :

X : Konsentrasi (ppm)
 FP : Faktor Pengenceran
 BS : Berat Sampel (mg)

3.5.3 Analisis Kandungan Klorofil

Bahan untuk analisis kandungan klorofil menggunakan daun planlet *Dendrobium* sp. yang sudah diimbas dengan AF, menggunakan metode Harbourne (1987) dengan spektrofotometer. Langkah kerjanya yaitu daun planlet *Dendrobium* sp. yang seragam sebanyak 0,1 g dihilangkan ibu tulang daunnya, kemudian digerus dengan mortar (*pestle*) kemudian ditambahkan 10 mL aseton 80%. Setelah itu larutan disaring dengan kertas saring, 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. Kandungan klorofil dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Chl a} = 12,21 \lambda_{663} - 2,81 \lambda_{646} \text{ mg/l} \quad (4)$$

$$\text{Chl b} = 20,13 \lambda_{646} - 5,03 \lambda_{663} \text{ mg/l} \quad (5)$$

$$\text{Chl total} = 17,3 \lambda_{646} + 7,18 \lambda_{663} \text{ mg/l} \quad (6)$$

Keterangan :

Chl a = klorofil a

Chl b = klorofil b

Chl total = klorofil total

A λ 663 = absorbansi pada panjang gelombang 663A λ 649 = absorbansi pada panjang gelombang 646**3.6 Analisis Data**

Analisis data pada penelitian ini berupa data kuantitatif (berupa data perhitungan) dan data kualitatif (berupa gambar). Data kuantitatif pada setiap parameter dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam atau *Anova* dilakukan pada taraf nyata 5% dan uji lanjut yaitu uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Konsentrasi asam fusarat yang toleran untuk seleksi planlet *Dendrobium* sp. pada pertumbuhan optimum adalah 40 ppm.
2. Planlet *Dendrobium* sp. yang tahan terhadap asam fusarat menunjukkan adanya karakter ekspresi yang berbeda, yaitu :
 - a. Terjadi peningkatan kandungan fenol total, pada konsentrasi asam fusarat 40 ppm menghasilkan kandungan fenol tertinggi yaitu 15,25 mg/100g.
 - b. Kandungan gula reduksi meningkat seiring dengan penambahan konsentrasi asam fusarat.
 - c. Kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total terjadi peningkatan dibandingkan dengan kontrol, konsentrasi asam fusarat 40 ppm menghasilkan kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total tertinggi.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, perlu dilakukan penelitian untuk meningkatkan konsentrasi asam fusarat sebagai pengimbasan pada anggrek *Dendrobium* sp. dan pembuktian secara molekular.

DAFTAR PUSTAKA

- Aberoumand, A. dan Deokule, S.S. 2008. Comparison Of Phenolic Compounds Of Some Edible Plants Of Iran And India. *Pakistan Journal of Nutrition*. 7(4): 582-585.
- Ai, N. S. dan Y. Banyo. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air Pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*. 11: 166-173.
- Al-kayyis, H. K dan Susanti, H. 2016. Perbandingan Metode Somogyi-Nelson Dan Anthrone-Sulfat Pada Penetapan Kadar Gula Pereduksi Dalam Umbi Cilembu (*Ipomea batatas* L.). *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*. 13(2): 81-89.
- Andari, G, dan Nurcahyani, E. 2018. Analisis Kandungan Klorofil Hasil Ketahanan Terimbas *Fusarium oxysporum* Terhadap *Spathoglottis plicata* Secara *In Vitro*. *Musamus Journal of Animal Livestock Science*, Vol. 1 No.1
- Andiani, Y. 2016. *Usaha Pembibitan Anggrek dalam Botol*. Pustaka Baru Press. Yogyakarta.
- Andriyani, A. 2017. *Membuat Tanaman Anggrek Rajin Berbunga*. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Anggraini, D.I. dan Damayanti, D. 2019. Studi Antiabetes Kombinasi Ekstrak Etanol Kubis (*Brassica oleraceae* L.) dan Tomat (*Solanum lycopersicum*) Secara *In Vitro*. *As-Syiffa Jurnal Farmasi*. 11 (01):30-37
- Baharuddin., M. Muin., dan H. Bandaso. 2007. Pemanfaatan Nira Aren (*Arenga Pinnata* Merr.) Sebagai Bahan Pembuatan Gula Putih Kistal. *Jurnal Perennial*. 3: 40-43.

- Blainski, A., Lopes, G. C., and De Mello, J. C. P. 2013. Application And Analysis Of The Folin Ciocalteu Method For The Determination Of The Total Phenolic Content From *Limonium brasiliense* L. *Molecules*. 18(6), 6852-6865. doi: 10.3390/molecules18066852.
- Bouizgarne, B., Bouteau, H.E.M., Frankart, C., Rebutier, D., Madiona, K., Pennarun, A.M., Monestiez, M., Trouverie, J., Amiar, Z., Briand, J., Brault, M., Rona, J.P., Ouhdouch, Y., and Hadramu, E.I. 2006. Early Physiological Responses of *Arabidopsis thaliana* Cells to Fusaric Acid : Toxic and Signalling Effects. *New Phytologist*. 169 : 209 – 218
- Campbell, N.A, dan Reece, J.B. 2008. *Biologi Edisi Delapan Jilid 2*. Erlangga. Jakarta
- Darmono, D. W. 2008. *Agar Anggrek Rajin Berbunga*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Dhianawaty, D., dan Ruslin. 2015. Polifenol dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Akar *Imperata cylindrica* (L) Beauv (Alang-alang). *Majalah Kedokteran Bandung*. 47 (1). Halaman 60–64
- Djaenuddin, N. 2011. *Bioekologi Penyakit Layu Fusarium oxysporum*. Balai Penelitian Tanaman Serelia Maros. Seminar dan Pertemuan Tahunan XXI PEI, PFI Komda Sulawesi Selatan dan Dinas Perkebunan Pemerintah Provinsi Sulawesi Selatan 7 Juni 2011 di Hotel Singga sana Makassar.
- Dressler and Dodson. 2000. Classificatin and Phylogeny in The Orchidaceae. *Annals Of The Missouri Botanical Garden*. 47: 25-67.
- Fennema, O.R.1996. *Food Chemistry, Thrid Edition*. Marcel Dekker Inc. New York.
- Gibson , R. 2005. *Principles of nutritional assessment*. Oxford university. New York.
- Gunawan, L.W. 2002. *Budidaya anggrek*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Harbourne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Terjemahan : Padmawinata K & Sudiro I. Penerbit ITB Bandung. pp : 259-261

- Hendriyani, I.S. dan Nintya, S. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan air yang berbeda. *Jurnal sains dan Mat.* Vol.17 No.3, 145-150
- Herawan, T., Na'iem, M., Indrioko, S., dan Indrianto, A. 2015. Kultur Jaringan Cendana (*Santalum album L.*) Menggunakan Eksplan Mata Tunas. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 9(3), 177-188.
- Inggrid, M., Lokasurya, D. S., Santoso, H., dan Hartanto, Y. 2018. Pengaruh Penambahan Zat Anti-browning Alami pada Kentang. In *Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan*.
- Kasutjianingati dan Irawan, R. 2013. Media alternative perbanyak in-vitro angrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) . *Jurnal agroteknos* . 184-189(3)
- Lehninger, A. L. 1982. *Dasar-dasar Biokimia, Jilid 1*, Alih bahasa, Maggi. Thenawijaya, Erlangga, Jakarta
- Mahardani, O.T. dan Yuanita, L. 2021. Efek Metode Pengolahan Dan Penyimpanan Terhadap Kadar Senyawa Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan. *UNESA Journal of Chemistry*. Vol. 10, No. 1
- Maulana, E., Efendi, D., dan Sari, L. 2021. Evaluasi Pertumbuhan, Kandungan Klorofil Dan Karotenoid Torbangan (*Coleus amboinicus Lour.*) Poliploid Melalui Kultur *In Vitro*. *Jurnal Bioteknologi dan Amp Biosains Indonesia (JBBI)*. 8(2), 230–243. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v8i2.4834>
- Mialoundama, A.S., Heinz, D., Debayle, D., Rahier, A., Camara, B., and Bouvier, F. 2009. Abscisic acid negatively regulates elicitor-induced synthesis of capsidiol in wild tobacco. *Plant Physiol.* 150, pp. 1556-66
- Minsas, S., Zakaria, I.J., dan Nurdin, J. 2013. Komposisi dan Kandungan Klorofil-a Fitoplankton pada Musim Barat dan Musim Timur di Estuaria Sungai Peniti, Kalimantan Barat. *Prosiding Semirata Universitas Lampung*.
- Mustafa, B., Esin, A., Sen, F.B., Kevser, S.B., Tütem, E., and Apak, R. 2018. A Simple Automated Microplate Method For Determining Reducing Sugars In Food Extracts And Synthetic Serum Using Cupric-Neocuproine As Reductant. *Turkish Journal of Chemistry*. 42.
- Ningsih Y. L. 2007. Pengaruh Pemberian Kompos Azolla Dan Macam Media Terhadap Pertumbuhan Bibit Angrek *Dendrobium sp.* Pada Fase Single

Pot. Tesis Jurusan budidaya Pertanian Muhammadiyah Malang, Malang.

Nurcahyani E, Sumardi I, Hadisutrisno B, dan Suharyanto E. 2012. Penekanan Penyakit Busuk Batang Vanili (*Fusarium oxysporum f.sp. vanillae*) Melalui Seleksi Asam Fusarat Secara *In Vitro*. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika* (JHPTT). 12 (1): 12-22

Nurcahyani, E. 2013. Karakterisasi Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Hasil Seleksi *In Vitro* dengan Asam Fusarat Terhadap *Fusarium oxysporum f.sp. vanillae*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Disertasi.

Nurcahyani, E., Sumardi., Hardoko, I. Q., Asma, P. and 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* (IOSR-JAVS). 12 (11) Ser. I. PP 41-46.

Nurcahyani, E., Qudus, H. I., & Evlin, F. (2021, April). Analysis of the reducing sugar of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) mutant plantlets resistant to *Fusarium* wilt. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2331, No. 1, p. 050010). AIP Publishing LLC.

Nurcahyani, E., Rasmani, R., & Qudus, H. I. 2022. In Vitro Selection and Total Phenol Analysis of Moon Orchid [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] Results of Induced With Fusaric Acid. *Advances in Biological Sciences Research*. 22(1). 558-564.

Nurheti, Y. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. Lily Publisher, Yogyakarta.

Orchid Spesies. 2022. *Dendrobium* sp..
<http://www.orchidspecies.com/denspeciessectionbiloba.htm> diakses pada 20 Juni 2022.

Pratama, A.J, dan Laily, A.N. 2015. Analisis Kandungan Klorofil Gandasuli (*Hedychium gardnerianum* Shephard ex Ker-Gawl) pada Tiga Daerah Perkembangan Daun yang Berbeda. Prosiding KPSDA; Malang, 2015. Pendidikan Biologi, Pendidikan Geografi, Pendidikan Sains, PKLH-FKIP UNS.

Purdue University Department of Chemistry. 2022. Structure of Phenol.
<https://www.chem.purdue.edu/jmol/molecules/phenol.html> diakses pada 25 Mei 2022.

- Roilan, R. 2016. Anggrek Pensil (*Papilionanthe hookerina*) Asli Bengkulu Sebagai Spesies Baru. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. 10(2), 204-210.
- Ru, Z., Lai, Y., Xu, C., and Li, L. 2013. Polyphenol oxidase (PPO) in early stage of browning of *Phalaenopsis* leaf explants. *Journal of Agricultural Science*. 5(9), 57.
- Sarwono, B. 2002. Mengenal dan Membuat Anggrek Hibrida. Penerbit Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Setiawati, T., Saragih, I.A., Nurzaman, M., dan Mutaqin, A.Z. 2016. Analisis Kadar Klorofil dan Luas Daun Lampeni (*Ardisia humilis* Thunberg) pada Tingkat Perkembangan yang Berbeda di Cagar Alam Pangandaran. Prosiding Seminar Nasional MIPA; Jatinangor, 27-28 Oktober 2016.
- Sjahril, R. dan Syam'un, E. 2011. *Herbisida dan Aplikasinya*. Makasar
- Soedjanaatmadja. 2008. *Peranan Pathogenesis Related (PR)-Protein dan Fitohormon dalam Menjaga Kelangsungan Kehidupan Tanaman serta Meningkatkan Produktivitas Hasil Pertanian*. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Soesanto, L. 2013. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Sumardiyono, C., Widiastuti, A., dan Wibowo, A. 2015. Ketahanan Beberapa Varietas Jagung Terhadap Penyakit Bulai di Kebumen. Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Surtinah, S., dan Mutryarny, E. 2013. Frekuensi Pemberian Grow Quick Lb Terhadap Pertumbuhan Bibit Anggrek *Dendrobium* Pada Stadia Komunitas Pot. *Jurnal Ilmiah Pertanian*, 10(2), 31-40.
- Sutejo, Priyatmojo, A., dan Wibowo, A. 2008. *Identifikasi Morfologi Beberapa Spesies Jamur Fusarium*. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian. Vol.14, No.1 : 7-13
- Vagiri, M., E. Johansson, and K. Rumpunen. 2017. Phenolic Compounds In Black Currant Leaves – An Interaction Between The Plant And Foliar Diseases. *Plant Interaction*. 1(12): 193-199.

Widiastoety, D., Solvia, N., dan Soedarjo, M. 2010. Potensi Anggrek *Dendrobium* Dalam Meningkatkan Variasi Dan Kualitas Anggrek Bunga Potong. *Jurnal Litbang Pertanian*. 29: 101-106.