

BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM
FISIOLOGI TUMBUHAN



Disusun Oleh

Dra. Dwi Setyati, M.Si

Prof. Dr.Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr., Sc.

Mukhamad Suudi, S.Si.,Ph.D

PRODI SARJANA BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER

2023

DAFTAR ISI

COVER	1
DAFTAR ISI.....	2
TATA TERTIB PRAKTIKUM	3
ACARA 1. Mengukur Potensial Osmotik Dengan Plasmolisis.....	4
ACARA 2. Pengaruh Suhu Terhadap Respirasi Kecambah.....	9
ACARA 3. Dormansi Biji	13
ACARA 4. Transpirasi dan Evaporasi.....	17
ACARA 5. Pengaruh Auksin (2,4-Dichlorophenoxyaceticacid) Terhadap Pertumbuhan Akar	20
ACARA 6. Hormon Auksin dan Sitokinin.....	22
ACARA 7. Fotosintesis	26
ACARA 8. Project Base (Small Research) Respon Pertumbuhan Beberapa Jenis Tumbuhan Terhadap Cekaman Salinitas.....	28
DAFTAR PUSTAKA	38

TATA TERTIB PRAKTIKUM

Praktikum Fisiologi Tumbuhan semester gasal 2023-2024 dilaksanakan secara *offline* , setiap praktikan wajib mentaati tata tertib praktikum sebagai berikut:

1. Mahasiswa (praktikan) wajib hadir 5 menit sebelum acara praktikum dimulai dengan berpakaian sopan (tidak diperkenankan mengenakan kaos oblong).
2. Setiap mahasiswa wajib mengisi kehadiran (presensi) sebelum mengikuti kegiatan praktikum secara online di suster dan pastikan presensinya terekam.
3. Praktikan **wajib** mengikuti pre-test/pos-tes yang dilaksanakan sebelum atau sesudah kegiatan praktikum.
4. Setiap praktikum wajib mengikuti acara praktikum pada jadwal yang sudah ditentukan sampai selesai. Durasi kegiatan praktikum 170 menit/minggu.
5. Apabila karena sesuatu hal seperti sakit, ada kepentingan keluarga yang mendesak dan lain-lain maka praktikan wajib memberikan surat keterangan yang dapat dipertanggungjawabkan (surat dokter, surat keterangan dari orang tua) kepada asisten dan mahasiswa yang bersangkutan wajib segera mendaftar untuk mengikuti inhalen.
6. Setiap selesai kegiatan praktikum, praktikan wajib membuat laporan praktikum (laporan individu) yang ditulis tangan.
7. Setiap praktikan wajib menyelesaikan semua acara praktikum (14-16 pertemuan) sesuai dengan yang jadwal yang sudah disusun.
8. Laporan pratikum dikumpulkan dalam bentuk *hard* dan *soft file* ke alamat email asisten atau *google drive* yang akan ditentukan kemudian.
9. Praktikan yang tidak lengkap mengikuti acara/kegiatan praktikum dan atau tidak melakukan inhalen, maka mahasiswa tersebut tidak diperkenankan mengikuti RESPONSI.
10. Responsi dilaksanakan setelah semua kegiatan praktikum selesai dilaksanakan.
11. Inhalen dapat dilaksanakan berdasarkan kesepakatan antara asisten dan praktikan dengan sepengetahuan dosen pembina MK, dengan batas waktu tidak lebih di minggu yang sama dari pelaksanaan praktikum.
12. Tidak diselenggarakan responsi dan inhalen ulang.

Catatan : Inhalen berbayar yang besarnya akan ditentukan kemudian.

Jember, Agustus 2023
Pembina MK Fisiologi Tumbuhan

ACARA 1. Mengukur Potensial Osmotik Dengan Plasmolisis

TUJUAN

1. Menemukan fakta tentang gejala plasmolisis
2. Menunjukkan faktor penyebab plasmolisis
3. Mahasiswa mampu mengukur potensial osmotik sel tumbuhan melalui teknik plasmolisis.

DASAR TEORI

Pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan secara normal tergantung pada beberapa faktor, salah satu faktor tersebut adalah ketersediaan air. Pada kondisi kekeringan maka kandungan air dalam tumbuhan menurun, jika keadaan tersebut berlangsung lama maka dapat menyebabkan kematian pada bagian tumbuhan yang sedang aktif tumbuh. Keadaan kekeringan tidak selalu berdampak negatif bagi tumbuhan tetapi juga memiliki dampak positif yaitu untuk keperluan ketahanan “*survive*” hidup suatu tumbuhan. Kondisi temperatur yang tinggi maupun rendah sangat tidak menguntungkan tumbuhan karena dapat mematikan organ vegetatif. Sedangkan organ reproduksi tumbuhan seperti biji pada temperatur tinggi dan rendah tidak menimbulkan kematian bagi organ tersebut. Oleh karena itu adaptasi tumbuhan pada kondisi kekeringan/ temperatur tinggi dan rendah melibatkan keadaan kandungan air yang rendah. Air oleh tumbuhan diserap dari dalam tanah kemudian sampai ke bagian atas tumbuhan karena adanya transportasi/pergerakan air. Hal ini berkaitan dengan potensial air.

Potensial air (potensial air = ψ , psi) penting untuk diketahui agar dapat memahami pergerakan air di dalam sistem tumbuhan, tanah dan udara. Potensial air dinyatakan dalam satuan bar seperti satuan tekanan kadang-kadang dalam satuan energi (kalori per mol). Air akan bergerak dari potensial air tinggi ke potensial air yang lebih rendah. Jadi difusi termasuk osmosis, terjadi sebagai respon akibat adanya gradient dalam energi bebas dari partikel-partikel yang berdifusi.

Nilai absolute potensial air tidak mudah diukur, tetapi perbedaan potensial air dapat diukur. Sebagai pegangan atau dasar diambil dari potensial air murni. Potensial air merupakan perbedaan energi bebas atau potensial kimia air per satuan/unit molal volume antara air murni dan suatu larutan pada suhu yang sama. Potensial air murni pada tekanan atmosfer sama dengan nol dan potensial air di dalam sel dan larutan kurang dari nol atau negatif.

Potensial air adalah suatu keadaan dari status energi bebas air, sebuah kekuatan penggerak yang menyebabkan air berpindah ke suatu sistem seperti jaringan tumbuhan, tanah atau atmosfer atau dari satu bagian ke bagian lain dalam suatu sistem. Potensial air merupakan parameter yang paling bermanfaat untuk diukur dalam hubungannya dengan sistem tanah, tumbuhan dan atmosfer.

Komponen-komponen potensial air sel atau jaringan adalah sebagai berikut :

$$\psi_{\text{sel}} = \psi_s + \psi_p + \psi_m$$

Keterangan :

ψ_{sel} : Potensial air sel tumbuhan

ψ_s : Potensial osmotik/solute

ψ_p : Potensial tekanan (tekanan turgor)

ψ_m : Potensial matriks

Potensial osmotik adalah potensial yang disebabkan oleh zat-zat terlarut, tandanya selalu negatif. Potensial tekanan adalah potensial yang disebabkan oleh tekanan hidrostatik sel pada dinding sel, nilainya bisa positif, nol atau negatif. Penambahan tekanan (terbentuknya tekanan turgor) mengakibatkan potensial tekanan lebih positif. Potensial matriks disebabkan oleh ikatan air pada koloid protoplasma dan permukaan (dinding sel). Potensial matriks bertanda negatif tetapi pada umumnya pada sel-sel eukariota nilainya dapat diabaikan. Oleh karena itu, persamaan di atas dapat disederhanakan menjadi :

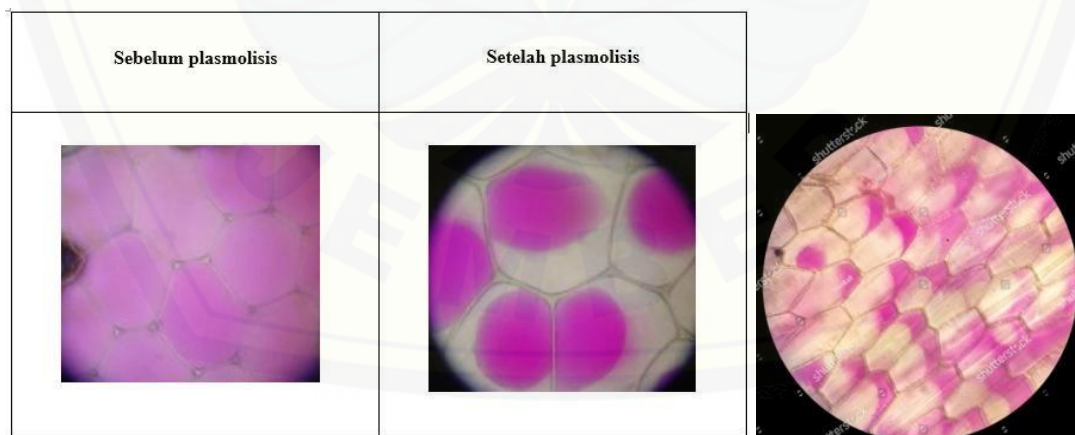
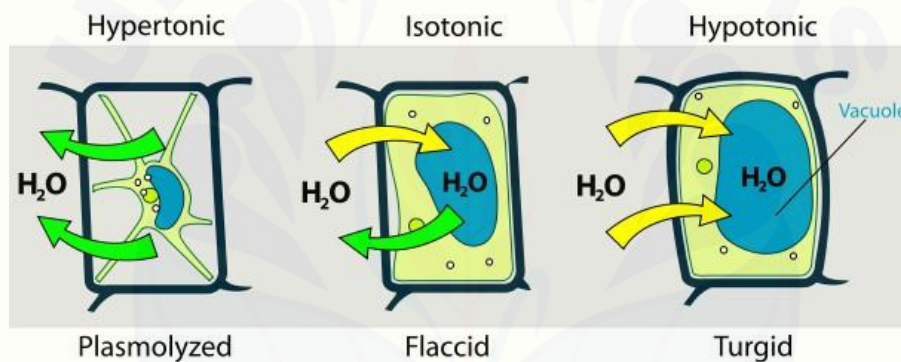
$$\psi_{\text{sel}} = \psi_s + \psi_p$$

Salah satu metode pengukuran potensial air jaringan tumbuhan ditentukan dengan cara merendam/meletakkan potongan jaringan sampel yang seragam dalam suatu seri larutan non elektrolit seperti sukrosa atau mannitol yang diketahui konsentrasinya. Dalam percobaan ini dicari larutan sukrosa yang tidak mengakibatkan perubahan berat atau volume jaringan yang berarti bahwa potensial air larutan sama dengan potensial air jaringan. Potensial air larutan sama dengan potensial osmotiknya. Maka persamaannya menjadi :

$$\psi_{\text{sel}} = \psi_s$$

Pengukuran potensial osmotik dapat dilakukan beberapa cara diantaranya adalah dengan cara plasmolisa. Plasmolisis merupakan peristiwa atau respon yang terjadi akibat adanya proses osmosis. Apabila suatu sel diletakkan dalam larutan yang hipertonik terhadap sitoplasma maka air dalam sel akan berdifusi keluar sehingga sitoplasma mengerut dan membran sel terlepas dari dinding sel. Peristiwa inilah yang disebut plasmolisis. Plasmolisis merupakan suatu fenomena pada sel berdinding dimana sitoplasma mengerut dan membran plasma tertarik menjauhi dinding sel ketika sel melepaskan air ke lingkungan hipertonik (Cambell, 2003:620) Gambar 1).

Proses plasmolisis didorong oleh adanya vakuola dan peristiwa ini bersifat reversible (dapat kembali ke keadaan normal/deplasmolisis) dan bersifat khas bagi sel tanaman hidup (Lang, *et.al.*, 2014).






Gambar 1. Epidermis bawah daun Jadam (*Rhoeo discolor* sp) sebelum dan setelah mengalami plasmolisis

Peristiwa plasmolisis terjadi bila jaringan ditempatkan pada larutan yang hipertonik atau memiliki potensial osmotik yang lebih tinggi. Dalam keadaan tersebut, air sel akan terdorong untuk berdifusi keluar sel menembus membran (osmosis). Prinsip yang digunakan dalam peristiwa plasmolisis adalah karena terjadinya peristiwa osmosis sebagai akibat adanya perbedaan konsentrasi zat terlarut dalam air medium dibanding zat terlarut yang ada di dalam protoplasma

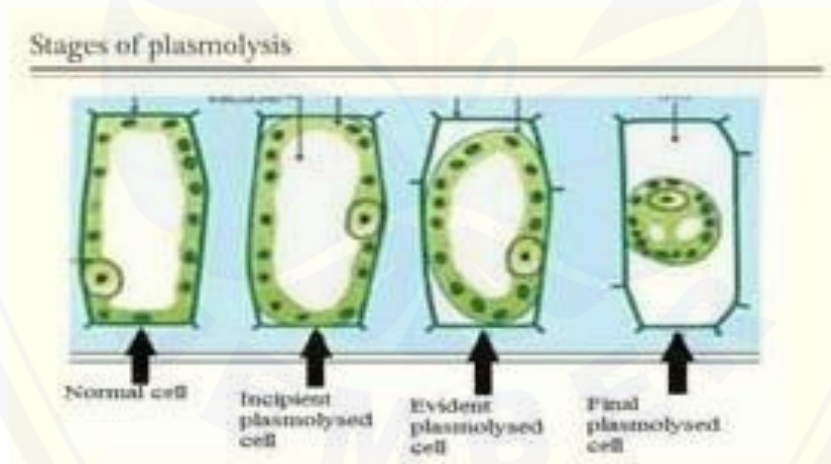
sel atau perbedaan potensial air antara dua tempat air yang dibatasi oleh membran sel tersebut. Kondisi sel yang terplasmolisis tersebut dapat dikembalikan ke kondisi semula. Pengembalian dari kondisi terplasmolisis ke kondisi semula ini dikenal dengan istilah deplasmolisis.

Untuk mengatur potensial osmotik, maka potensial turgor harus nol karena keluarnya sebagian air dari vakuola. Keadaan yang menunjukkan bahwa volume vakuola tepat cukup untuk menahan menempelnya protoplasma pada dinding sel disebut *plasmolisis insipient* (Gambar 2). Plasmolisis insipien dapat dikenali apabila dalam suatu larutan eksternal (misal sukrosa) dijumpai sekumpulan sel yang 50% terplasmolisis dan 50% lagi tidak berplasmolisis. Dalam keadaan tersebut membrane plasma hanya terpisah pada sudut dinding sel (Tabel 1.)

Table 11.2: Difference between plasmolysis types.

Incipient plasmolysis	Evident plasmolysis	Final plasmolysis
No morphological symptoms appear in plants.	Wilting of leaves appear.	Severe wilting and drooping of leaves appear.
The plasma membrane separates only at the corner from the cell wall of cells.	Plasma membrane completely detaches from the cell wall.	Plasma membrane completely detaches from cell wall with maximum shrinkage of volume.
It is reversible.	It is reversible.	It is irreversible.
		

Tabel 1. Perbedaan dan stadium plasmolisis



Gambar 2. Stadium plasmolisis dan plasmolisis insipien

ALAT DAN BAHAN.

- Daun Jadam (*Rhoeo discolor*)/Umbi bawang merah (*Allium cepa*)
- Tabung reaksi / petridish/botol flacon
- Mikroskop
- Gelas preparat dan penutupnya.
- Pisau silet/cutter.
- Tissue
- Pinset
- Pipet tetes
- Beaker glass 25 ml

CARA KERJA.

1. Siapkan tujuh buah botol yang masing - masing diisi larutan sukrosa 0,30 M; 0,26 M; 0,22 M; 0,18 M; 0,14 M; dan 0,10M sebanyak 5 ml.
2. Sayatlah epidermis bawah daun *Rhoeo discolor*, tiap sayatan upayakan mengandung minimal 20 sel epidermis (hitung jumlah sel epidermis dengan mikroskop pada perbesaran 10x40= jumlah sel awal/kontrol).
3. Masukkan sayatan – sayatan epidermis tersebut ke dalam botol yang telah berisi larutan sukrosa. Masukkan 2 sayatan epidermis ke dalam masing-masing konsentrasi larutan tersebut dengan selisih 5 menit.
4. Biarkan sayatan-sayatan tersebut terendam selama 20-30 menit.
5. Setelah perendaman selesai selanjutnya siapkan gelas benda dan ambil sayatan epidermis tersebut dan letakkan di atasnya serta tetesi dengan larutan perendamnya.
6. Periksa sayatan tersebut di bawah mikroskop.
7. Perhatikan dan hitunglah serta tentukan pada larutan sukrosa mana terdapat sel-sel yang 50% dari sel-selnya mengalami plasmolisis. Keadaan tersebut dinamakan insipient plasmolisa (*incipient plasmolysis*), dan potensial osmotik pada insipient plasmolisa harganya lebih kecil dari harga potensial osmotis sel epidermis yang sebenarnya.
8. Tentukan nilai potensial osmotik (PO, Ψ_s) cairan sel dengan menggunakan rumus sebagai berikut

$$\Psi_s = \frac{-22,4 M}{273} \text{ bar}$$

Keterangan :

- Ψ_s = Potensial solute (osmotik)
M = Konsentrasi larutan sukrosa yang menyebabkan sel berada dalam keadaan *plasmolisis insipient* (50% terplasmolisis).
T = Suhu absolute (suhu ruang $^{\circ}\text{C} + 273$)
-22,4 = Nilai potensial osmotik larutan sukrosa 1,0 M pada suhu ruang

Isikan hasil pengamatan saudara sel sebelum dan sesudah mengalami plasmolisis, seperti contoh tabel di bawah ini:

Konsentrasi larutan	Jumlah sel		% sel yang terplasmolisis	Potensial solute (Ψ_s)
	Mula-mula	Setelah perlakuan		
0,10M				
0,14M				
0,18M				
0,22M				
0,26M				
0,30M				

ACARA 2. Pengaruh Suhu Terhadap Respirasi Kecambah

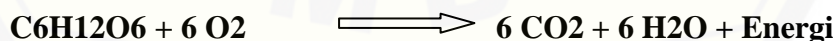
TUJUAN : Mengamati pengaruh suhu terhadap laju respirasi kecambah.

PENDAHULUAN

Respirasi atau oksidasi glukosa secara lengkap adalah merupakan sumber energi yang utama untuk kebanyakan sel. pada waktu glukosa dipecah dalam suatu rangkaian reaksi enzimatik, beberapa energi dibebaskan dalam bentuk ikatan fosfat berenergi tinggi (ATP) dan sebagian lagi hilang sebagai panas. Jadi respirasi merupakan proses oksidasi substrat glukosa, berlangsung dalam rangkaian proses pemecahan (katabolisme) yang melibatkan sistem enzim pada glikolisis (**jalur EMP**) dan daur Trikarboksilat (**daur Krebs**).

Fase pertama dalam pemecahan glukosa adalah **glikolisis** yaitu 6 karbon molekul glukosa dipecah menjadi dua molekul senyawa berkarbon 3 yaitu asam piruvat; terbentuk 2 molekul ATP dan 2 molekul NADH₂. Reaksi ini berlangsung di dalam **sitoplasma**. Pada reaksi respirasi selanjutnya molekul-molekul asam piruvat akan dipecah dalam **mitokhondria** menjadi asetil grup dengan 2 karbon yang kemudian masuk ke dalam **daur/siklus Krebs**. Dalam siklus Krebs's kelompok asetil akan dipecah dalam suatu seri reaksi sehingga dihasilkan CO₂. Pada waktu terjadi oksidasi asetil group, tiap molekul asetil, 3 molekul NAD dan 1 molekul FAD akan mengalami reduksi dan terbentuk 1 molekul ATP

Langkah terakhir respirasi adalah **rantai pengangkutan elektron** yang melibatkan sejumlah pembawa elektron dan enzim-enzim yang terdapat di dalam membran dalam dari mitokhondria. Di dalam sistem pengangkutan elektron, NAD yang mengalami reduksi dalam glikolisa, dan NAD serta FAD yang mengalami reduksi dalam siklus Krebs akan memberikan elektronnya kepada molekul oksigen disertai dengan pembebasan tenaga yang cukup besar, yang akan dirubah dalam bentuk ATP. Persamaan reaksi dari respirasi aerobik adalah sebagai berikut:



Tiap molekul glukosa reaksi respirasi akan menghasilkan 26 molekul ATP, 6 molekul karbon dioksida dan 6 molekul air. Apabila tidak terdapat oksigen maka asam piruvat akan dirubah menjadi etanol dan CO₂ dalam suatu proses anaerob yang disebut fermentasi. Dalam reaksi ini, tiap molekul glukosa hanya dihasilkan 2 molekul ATP.

Reaksi respirasi adalah reaksi enzimatik, dan sebagaimana pada reaksi-reaksi enzimatik lain intensitasnya sangat dipengaruhi oleh temperatur. Pada temperatur di atas 5°C, tiap kenaikan 10°C kecepatan respirasi menjadi 2 kali lipat.

BAHAN DAN ALAT YANG DIPERLUKAN

BAHAN : 1. Larutan Na OH 0,2N/ KOH 0,5N

2. Kecambah kacang hijau/ kacang merah jagung
3. BaCl₂ 0,5N
4. HCl 0,1N
5. Indikator Phenolphthaline (PP)

ALAT : 1. Botol 250 cc

2. Timbangan

3. Termometer

4. Kain kasa/tile

5. Buret

6. Pipet

7. Erlenmeyer

8. Benang

PROSEDUR

1. Siapkan 6 buah botol yang volumenya 250 ml. Masukkan ke dalam masing-masing botol tersebut 50 ml larutan NaOH 0,2 N dan segera tutuplah rapat dengan tutup karet atau gabus.
2. Timbanglah 3 kelompok kecambah kacang masing-masing 20 gram, dan bungkuslah dengan kain tile/kasa. Dengan pertolongan tali gantungkan bungkus kecambah kacang tadi ke dalam botol (1,2 dan 3).
3. Jagalah agar kecambah dan kain kasanya tidak menyentuh larutan NaOH. Tutuplah kembali botol tersebut dengan rapat dengan menggunakan vaselin. Botol ke 4, 5 dan 6 tanpa kecambah (hanya berisi NaOH) digunakan sebagai kontrol.
4. Letakkan 6 botol tersebut baik yang berisi kecambah (P) dan tanpa kecambah (K) di masing-masing pada tempat dengan temperatur yang berbeda-beda.
Botol P,K: masukkan ke dalam lemari pendingin (bukan freezer)
Botol P,K: masukkan ke dalam inkubator suhu 35°C
Botol P,K: tempatkan pada suhu kamar

5. Ukurlah temperatur pada masing-masing tempat inkubasi tersebut dengan menempatkan termometer dinding.
6. Setelah 48 jam keluarkan kecambah dari masing-masing botol dan dengan cepat botol ditutup lagi.
7. Tentukan banyaknya CO₂ yang dibebaskan dari respirasi kecambahnya pada suhu yang berbeda-beda dengan titrasi.

Cara Titrasi :

1. Pipet 10 ml larutan dari masing-masing botol dan masukkan ke dalam Erlenmeyer volume 125 ml. Tambahkan 5 ml larutan BaCl₂ 0,5N dan 3 tetes PP sampai larutan berwarna merah.
2. Titirlah larutan tersebut dengan HCl 0,1 N dan hentikan tetrasis tepat pada saat warna merah hilang. Catatlah berapa banyak larutan HCl yang dibutuhkan.
3. Lakukan titrasi dengan cara yang sama seperti tersebut di atas pada botol kontrol.
4. Ulangi masing-masing perlakuan dengan titrasi 2 kali dan ambil rata-ratanya.
5. Masukkan data hasil pengukuran dalam tabel berikut:

Tabel. Rata-rata jumlah HCl yang dibutuhkan untuk titrasi kecambah

Perlakuan (P)/(K)	Volume HCl yang dibutuhkan		Rata-rata HCl
	Titrasi 1	Titrasi 2	
Kulkas P: K:			
Suhu kamar P: K:			
Inkubator P: K:			

6. Hitunglah CO₂ hasil respirasi dengan cara : kurangkan hasil titrasi dari botol berisi kecambah pada hasil titrasi botol kontrol Hasilnya dikalikan dikalikan 5. Angka ini menunjukkan banyaknya HCl yang equivalent dengan banyaknya CO₂ hasil respirasi.

7. Masukkan banyaknya hasil CO₂ respirasi dalam tabel di bawah ini

Tabel. Jumlah CO₂ respirasi kecambah kacang hijau/kacang merah/jagung pada suhu yang berbeda.

Kelas/Kelompok	Jumlah CO ₂ hasil respirasi kecambah di		
	Kulkas (suhu...)	Suhu kamar (.....)	Inkubator (35 ⁰ C)
AP/1			
AP/2			
AP/3			
AP/4			
dst.			



ACARA 3. Dormansi Biji

TUJUAN :

1. Mahasiswa mampu mempraktekkan pematangan dormansi biji dengan menggunakan perlakuan fisik dan kimia
2. Mahasiswa dapat menghitung daya kecambah biji
3. Mahasiswa mampu menentukan metode yang efektif untuk pematangan dormansi biji kulit keras

PENDAHULUAN

Biji yang hidup tetapi tidak berkecambah meskipun diletakkan pada keadaan yang secara normal memenuhi persyaratan untuk perkecambahannya, yaitu persediaan air yang cukup, suhu yang sesuai dan komposisi udara normal, dikatakan bahwa biji dalam keadaan dorman.

Penyebab dormansi biji adalah faktor internal, eksternal dan waktu. Faktor internal biji yaitu embrio yang belum masak/*immature*, kulit biji, rendahnya kadar etilen, adanya zat penghambat/inhibitor dan tidak adanya zat perangsang tumbuh. Hambatan perkecambahan karena embrio belum masak dinamakan periode *after-ripening*. Faktor eksternal atau lingkungan yaitu kebutuhan akan cahaya untuk perkecambahan, suhu dan kurangnya air. Sedangkan faktor waktu yaitu setelah pematangan (waktu yang diperlukan oleh biji untuk mulai berkecambah setelah pematangan buah), hilangnya inhibitor (waktu yang diperlukan sampai inhibitorynya hilang) dan waktu sintesis zat perangsang tumbuh.

Dormansi karena kulit biji yang keras menghalangi masuknya air dan oksigen (impermeabilitas kulit biji terhadap air dan oksigen) ke dalam biji dan merupakan hambatan mekanis untuk tumbuhnya embrio. Setiap perlakuan yang dapat melunakkan atau merusakkan kulit biji yang rusak dapat menyebabkan biji berkecambah. Perlakuan tersebut dinamakan skarifikasi. Skarifikasi dapat dilakukan antara lain dengan menggosok kulit biji dengan material *abrasive* atau dengan cara merendam kulit biji menggunakan bahan kimia seperti asam sulfat pekat selama beberapa waktu (menit).

Macam-macam perlakuan untuk pematangan dormansi biji yaitu 1). Skarifikasi : perlakuan terhadap kulit biji; 2) Stratifikasi : perendaman (air panas); 3) Kimia : penggunaan bahan kimia seperti KNO_3 , HCl , H_2SO_4 , dan lain-lain. Pematangan dormansi di alam karena kulit biji yang

keras dengan berbagai cara, misalnya dengan pergantian basah dan kering, suhu yang sangat rendah, perendaman dalam air panas, abrasi oleh pasir di tanah, aktivitas mikroba tanah, api karena kebakaran atau alat pencernaan hewan apabila biji dimakan oleh hewan. Cairan buah tertentu seperti jeruk dan tomat juga dapat menjadi penyebab penghambat perkecambahan biji. Untuk mematahkan dormansi karena adanya zat penghambat tersebut dengan cara mencuci biji dengan air sehingga zat-zat penghambatnya hilang.

Bahan : 1. Biji saga (*Abrus precatorius*)

2. Padi hitam
3. Hormon Giberelin 50 ppm
4. Asam sulfat pekat
5. Akuades
6. Giberelin

Alat : 1. Cawan petri

2. Alat penggosok (amplas atau gerinda)

PROSEDUR:

A. Sterilisasi benih

1. Ambil masing-masing 80 biji saga atau 160 biji padi hitam yang kondisinya baik (tidak berkerut, strukturnya padat, tidak berlubang dan saat dimasukkan ke dalam air biji-biji tersebut tenggelam) kemudian bagilah menjadi 4 kelompok (tiap-tiap kelompok 10 biji).
2. Benih terpilih kemudian disterilisasi dengan menggunakan NaOCl (pemutih komersial) 2% selama 5 menit kemudian dibilas dengan akuades sebanyak 3 kali (Nio *et al.*, 2010).

B. 1. Perkecambahan Biji Saga (Skarifikasi)

1. Ambil 80 biji saga yang sudah disterilisasi kemudian bagilah menjadi 4 kelompok, tiap-tiap kelompok 10 biji dengan ulangan 2 kali

2. Kelompok 1, berilah perlakuan fisik dengan dengan cara diampelas pada bagian cadangan makannannya sehingga terlihat bagian yang berwarna putih/kotiledonnya. Biji selanjutnya dikecambahkan dalam bak plastic berpasir yang sebelumnya sudah disiram dengan akuades.
3. Kelompok 2, berilah perlakuan kemis/kimiawi dengan cara merendam dalam hormon giberelin 50 ppm selama 30 menit selama 15 menit kemudian cuci biji-biji tersebut dengan akuades dan kemudian dikecambahkan dalam bak berpasir.
4. Kelompok 3, berilah perlakuan fisik (diampelas) dan kemis/kimiawi(direndam dalam hormone giberelin) kemudian dikecambahkan dalam bak berpasir
5. Kelompok 4, biji langsung dikecambahkan dalam bak berpasir sebagai kontrol
6. Lakukan pengamatan setiap hari dan lakukan penyiraman sebelum media tanam kering. Lakukan pengamatan selama 2 minggu
7. Parameter yang diamati meliputi : kecepatan berkecambah, daya kecambah, keserempakan berkecambah dan bobot kecambah (basah dan kering).

B. 2. Perkecambahan Biji Padi Hitam (Stratifikasi)

1. Ambil 160 biji padi hitam yang sudah disterilisasi kemudian bagilah menjadi 4 kelompok, tiap-tiap kelompok 20 biji dengan ulangan 2 kali
2. Kelompok 1, berilah perlakuan fisik dengan dengan cara direndam dalam air panas suhu 60°C selama 5 menit dalam keadaan tertutup kemudian dikembangkan di kertas merang yang sudah dilembabkan.
3. Kelompok 2, berilah perlakuan kemis/kimiawi dengan cara merendam dalam hormon giberelin 50 ppm selama 30 menit selama 15 menit kemudian cuci biji-biji tersebut dengan akuades dan kemudian dikecambahkan di kertas merang yang sudah dilembabkan..
4. Kelompok 3, berilah perlakuan fisik (perendaman dalam air panass) dan kemis/kimiawi(direndam dalam hormon giberelin) kemudian dikecambahkan di kertas merang yang sudah dilembabkan.
5. Kelompok 4, biji langsung dikecambahkan di kertas merang yang sudah dilembabkan.

6. Lakukan pengamatan setiap hari dan lakukan penyiraman sebelum media tanam kering. Lakukan pengamatan selama 2 minggu
7. Parameter yang diamati meliputi : kecepatan berkecambah, daya kecambah, keserempakan berkecambah dan bobot kecambah (basah dan kering).

Tabel Pengamatan Pemecahan Dormansi Biji Saga

Hari Pengamatan ke-	Jumlah biji yang berkecambah pada perlakuan skarifikasi				
	Ampelas	Giberelin (GA)	Ampelas+GA	Kontrol	Keterangan
1					
2					
dst					

Tabel Pengamatan Pemecahan Dormansi Biji Padi Hitam

Hari Pengamatan ke-	Jumlah biji yang berkecambah pada perlakuan skarifikasi				
	Air panas	Giberelin (GA)	Air panas +GA	Kontrol	Keterangan
1					
2					
dst					

ACARA 4. Transpirasi dan Evaporasi

TUJUAN :

1. Mahasiswa mampu menghitung luas permukaan daun
2. Mahasiswa mampu menghitung laju evaporasi dan transpirasi dari lembaran daun

PENDAHULUAN

Daun adalah organ pokok pada tubuh tumbuhan. Daun berperan penting dalam proses fotosintesis. Selain itu daun juga dalam hal hilangnya molekul air dari tubuh tumbuhan. Hilangnya air dalam tubuh tumbuhan sebanding dengan organ lain dari tumbuhan. Kegiatan transpirasi dipengaruhi oleh besar-kecilnya luas permukaan daun, jumlah stomata, jumlah bulu pada permukaan daun dan juga faktor luar seperti : intensitas cahaya, temperatur, kelembaban dan lain-lain.

Transpirasi adalah kehilangan air dalam bentuk uap dari permukaan sel-sel hidup. Hal ini dapat terjadi pada semua bagian tumbuhan, terutama pada permukaan daun. Air diserap dari akar dan air itu kemudian diangkut melalui xilem ke semua bagian tumbuhan khususnya daun. Tidak semua air digunakan dalam proses fotosintesis. Air yang berlebihan akan dibuang melalui proses transpirasi. Jika kadar kehilangan air melalui transpirasi melebihi kadar pengambilan air tumbuhan tersebut, maka pertumbuhan tumbuhan akan terhambat.

Seluruh bagian dari tumbuhan akan mengadakan kegiatan transpirasi melalui kutikula, stomata, dan lentisel. Daun mempunyai permukaan yang luas dan tempat berlangsungnya fotosintesis yang menghasilkan panas sehingga penguapan air dalam bentuk gas lebih banyak ditambah lagi bahwa air yang hilang kebanyakan dari stomata. Stomata terdapat pada kedua permukaan daun tetapi pada bagian bawah daun ditemukan jumlah stomata yang lebih banyak dari pada permukaan atas. Mekanisme dari membuka dan menutupnya stomata juga dipengaruhi dalam peristiwa transpirasi tumbuhan.

Transpirasi dari permukaan daun terutama sekali berlangsung melalui stomata (disebut juga transpirasi stomata), tetapi ada pula yang melalui kutikula (transpirasi kutikula). Transpirasi dapat dipengaruhi oleh faktor dalam dan lingkungan. Faktor dalam yang mempengaruhi transpirasi adalah jumlah dan letak stomata, tebal dan tipis permukaan daun, luas daun, tebal dan tipisnya kutikula, sedangkan faktor luar yang mempengaruhi transpirasi adalah cahaya, suhu, kelembaban udara, angin, jenis dan kandungan air tanah.

Kehilangan air karena transpirasi terjadi di seluruh bagian tanaman yang langsung bersentuhan dengan atmosfer luar. Tetapi yang terutama adalah dari daun dan hampir seluruh transpirasi terjadi melalui pori-pori stomata. Kutikula hanya melepaskan sejumlah kecil uap air, karena kutikula dari banyak macam daun sangat tidak permeabel terhadap air.

Peranan transpirasi bagi tumbuhan yaitu pengangkutan air ke daun dan difusi air antar sel, penyerapan dan pengangkutan air dan hara, pengangkutan asimilat, membuang kelebihan air, pengaturan bukaan stomata dan mempertahankan suhu daun. Transpirasi juga dapat membahayakan tanaman jika lengas tanah terbatas, penyerapan air tidak mampu mengimbangi laju transpirasi.

Evaporasi adalah difusi molekul cairan ke udara, molekul dibebaskan melalui evaporasi dalam bentuk gas. Bentuk gas dari air disebut uap air. Perbedaan antara transpirasi dengan evaporasi adalah pada transpirasi terjadi proses fisiologis atau fisika yang termodifikasi, mengatur bukaan stomata, mengatur beberapa macam tekanan, terjadi di jaringan hidup dan permukaan sel basah, sedangkan pada evaporasi terjadi proses fisika murni, tidak diatur bukaan stomata, tidak diatur oleh tekanan, tidak terbatas pada jaringan hidup dan permukaan yang menjalankannya menjadikering

ALAT DAN BAHAN:

ALAT

1. Timbangan Analitik,
2. kertas merang,
3. jepitan kertas,
4. selotip,
5. gunting,
6. vaselin

BAHAN :

1. Bahan tanaman : Daun dari beberapa jenis tanaman (kupu-kupu, jeruk, belimbing, bambu,mlinjo, mahoni dll)

PROSEDUR KERJA:

1. Menghitung luas daun (Metode Gravimetri)

1. Ambil lembaran daun dari tanaman (3 lembar) perjenis tumbuhan, lalu tempelkan pada selembar kertas yang telah diketahui berat dan luasnya.
2. Selanjutnya lembaran daun dijiplakan pada kertas tersebut.
3. Kemudian jiplakan gambar daun digunting dan ditimbang.
4. Dengan demikian luas daun dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Luas daun} = \frac{\text{Berat guntingan gambar daun}}{\text{Berat kertas}} \times \text{luas kertas}$$

2. Perkiraan Kecepatan Evaporasi Daun

1. Ambil lembaran daun yang telah diketahui luas permukaannya tadi, kemudian ditimbang dan digantung dengan jepitan kertas di dalam ruangan atau sinar matahari langsung.
2. Dalam interval waktu tertentu (30 menit) dilakukan penimbangan terhadap daun tersebut (penimbangan dilakukan sebanyak 3 kali).
3. Buat daftar penimbangan pengurangan berat daun selama evaporasi

$$\begin{aligned} \text{Kecepatan Evaporasi} &= \frac{\text{Besar penguapan}}{\text{Luas permukaan daun}} : \text{waktu} \\ &= \dots\dots\dots \text{ g / cm}^2 \text{ / menit} \end{aligned}$$

C. Perkiraan laju transpirasi daun

1. Dua lembar daun yang telah diketahui luasnya pada percobaan a ditimbang, kemudian direndam dalam air selama 10 menit dan dikeringkan dengan kertas tissue.
2. Daun pertama diolesi vaselin pada permukaan atasnya dan yang kedua pada permukaan bawahnya, dan ditimbang kembali.
3. Kedua daun tersebut diletakkan pada panas matahari selama 30-60 menit atau lebih, dan ditimbang kembali.
4. Bandingkan hasil antara transpirasi kutikula dari permukaan atas dan transpirasi stomata dari permukaan bawah

Tabel pengamatan

A. Menghitung luas daun

No.	Pengukuran/Penimbangan	Daun Jenis Tumbuhan								
		Bambu			Kupu-kupu			Jeruk		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	Berat kertas									
2	Luas kertas									
3	Berat jiplakan daun kertas									
4	Luas daun									

B. Perkiraan Kecepatan Evaporasi Daun

No.	Pengukuran/Penimbangan	Daun Jenis Tumbuhan								
		Bambu			Kupu-kupu			Jeruk		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	Luas daun									
2	Berat daun (awal)									
3	Berat daun setelah evaporasi (akhir)									
4	Kecepatan evaporasi									
	Rata-rata Kecepatan evaporasi									

ACARA 5. Pengaruh Auksin (2,4-Dichlorophenoxyaceticacid) Terhadap Pertumbuhan Akar

TUJUAN :

1. Mengamati pengaruh 2,4-D pada perkecambahan dan pertumbuhan akar
2. Menentukan konsentrasi 2,4-D yang efektif dalam mempengaruhi pertumbuhan akar

DASAR TEORI

Salah satu faktor internal yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman adalah hormon tumbuh. Hormon tumbuhan (Fitohormon) adalah senyawa yang disintesis di dalam suatu bagian tumbuhan dan ditranslokasikan ke bagian lainnya ; dalam konsentrasi yang rendah (sering efektif pada konsentrasi internal sekitar 1 μM) dapat menyebabkan respon fisiologis. Respon pada organ target tidak selalu bersifat promotif karena proses-proses seperti pertumbuhan dan diferensiasi kadang-kadang di terhambat oleh hormon terutama ABA. Banyak senyawa sintetik yang mempunyai aktivitas seperti hormon maka digunakan istilah **zat tumbuh** atau **zat pengatur tumbuh tumbuhan** untuk senyawa-senyawa yang dibuat secara sintetik.

Zat Pengatur Tumbuh Tanaman (ZPT)/plant growth substances merupakan senyawa organik bukan nutrisi tanaman yang aktif dalam konsentrasi rendah (dapat $< 1 \text{ mM}$) merangsang, menghambat atau merubah pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan secara kuantitatif maupun kualitatif. Bisa dihasilkan oleh tanaman (alami/endogen) atau sintetik (eksogen). ZPT memiliki peran seperti mempercepat pembentukan akar bagi tanaman muda, membantu penyerapan unsur hara dari dalam tanah, mencegah pengguguran daun dan mempercepat proses fotosintesis. Dengan demikian, pemberian ZPT dapat berperan dalam meminimalisir kegagalan pada perbanyakan melalui teknik stek. Pemberian ZPT sebagai hormon eksogen tidak perlu diberikan terlalu banyak karena tanaman sudah menghasilkan hormon endogen secara mandiri.

Pada dasarnya ada lima macam kelompok hormon yang berperan pada tumbuhan, yaitu auxin, sitokinin, giberelin, absisin dan etilen. Berdasarkan aktivitas fisiologisnya fitohormon dibagi menjadi dua kelompok, yaitu: 1) memacu pertumbuhan (*promoter*) seperti auxin, giberelin, dan sitokinin, 2) menghambat pertumbuhan (*inhibitor*) seperti etilen dan ABA. Auxin dan giberelin secara langsung mempengaruhi pemanjangan sel. Sitokinin aktif dalam merangsang pembelahan sel, pembentukan tunas dan absisin berpengaruh menghambat pertumbuhan. Etilen satu-satunya hormon tumbuh yang berbentuk gas, berperan merangsang pematangan buah dan kerontokan daun. Disamping hormon-hormon ini terdapat beberapa senyawa phenol yang dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman misalnya coumarin dan cafein. Namun karena senyawa ini berpengaruh pada kadar yang tinggi maka tidak dapat dimasukkan pada hormon. Pertumbuhan tidak hanya dipengaruhi oleh salah satu hormon, tetapi merupakan hasil kerjasama antara kelima kelompok hormon tersebut.

Auksin yang memiliki fungsi merangsang pertumbuhan dan merangsang pembelahan dan pembesaran sel. Auksin adalah zat hormon tumbuhan yang ditemukan pada ujung batang, akar, dan pembentukan bunga. Fungsi auksin adalah pengatur pembesaran sel dan memicu pemanjangan sel di daerah belakang meristem ujung, mempercepat pematangan buah, mengurangi jumlah biji dalam buah, mempengaruhi aktivitas kambium dalam pembelahan sel dan pembentukan jaringan. Pada konsentrasi tertentu, auksin dapat mendorong fase perkembangan tetapi akan menghambat bila konsentrasinya dinaikkan, dan suatu konsentrasi

yang mendorong pem-besaran sel pada pucuk mungkin akan menghambat pembesaran sel pada akar dari tum-buhan yang sama. Sifat kerja auksin bergantung pada kepekaan jaringan, konsentrasi auksin endogen di dalam jaringan atau keadaan fisiologis lain dari jaringan.

Berdasarkan bahan aktifnya, auksin dikelompokkan menjadi empat, yaitu, indole, naftalen, phenoksi dan bensoat. Salah satu auksin dengan bahan aktif phenoksi adalah 2,4 D (2,4 Dicloro phenoksi Acetic Acid. Disamping itu, auksin dapat dibedakan menjadi auksin endogen/alami (IAA) dan auksin sintetis/eksogen. Diantara berbagai jenis auksin sintetik 2,4 D ; 2,4,5-T, Dicamba dan Tordon adalah herbisida untuk gulma dikotil jika digunakan dalam konsentrasi tinggi tetapi dalam konsentrasi rendah bersifat sebagai auksin.

ALAT DAN BAHAN

ALAT :

1. Kertas merang/saring,
2. 6 buah cawan petri

BAHAN :

1. 105 biji mentimun (*Cucumis sativus*), kacang tholo atau biji jenis tanamanlainnya
2. 10 ml larutan baku 2,4-D 100 ppm

PROSEDUR KERJA

1. Letakkan kertas saring/kertas merang pada setiap cawan petri.
2. Dari larutan baku 2,4-D dibuat masing-masing 15 ml larutan-larutan 2,4-D dengan konsentrasi sebagai berikut: 0.0; 0.001; 0.01; 0.1; 1.0 dan 10.0 mg/l.
3. Tandai setiap cawan petri dengan angka 1 sampai dengan 6. Tuangkan 10 ml larutan 2,4-D ke dalam masing-masing cawan. Catat konsentrasi 2,4-D yang ada pada masing-masing cawan.
4. Letakkan 10 biji mentimun / biji tanaman lainnya ke dalam masing-masing cawan petri.
5. Simpanlah di tempat gelap selama 5 hari.
6. Pada akhir percobaan ukur panjang akar primer setiap kecambah. Hitung panjang rata-rata pada masing-masing perlakuan.
7. Buatlah grafik yang memperlihatkan hubungan antara konsentrasi 2,4-D dengan panjang akar primer sehingga dapat diketahui pengaruh dari pemakaian 2,4-D dalam pertumbuhan akar.

ACARA 6. Hormon Auksin dan Sitokinin

TUJUAN :

1. Melihat pengaruh 2,4-D dalam perkecambahan dan pertumbuhan akar
2. Untuk melihat bahwa sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang berperan dalam perlambatan proses senescence

PENDAHULUAN

Salah satu faktor internal yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman adalah hormon tumbuh. Hormon tumbuhan (Fitohormon) adalah senyawa yang disintesis di dalam suatu bagian tumbuhan dan ditranslokasikan ke bagian lainnya ; dalam konsentrasi yang rendah (sering efektif pada konsentrasi internal sekitar 1 μM) dapat menyebabkan respon fisiologis. Respon pada organ target tidak selalu bersifat promotif karena proses-proses seperti pertumbuhan dan diferensiasi kadang-kadang di terhambat oleh hormon terutama ABA. Banyak senyawa sintetik yang mempunyai aktivitas seperti hormon maka digunakan istilah **zat tumbuh** atau **zat pengatur tumbuh tumbuhan** untuk senyawa-senyawa yang dibuat secara sintetik.

Zat Pengatur Tumbuh Tanaman (ZPT)/plant growth substances merupakan senyawa organik bukan nutrisi tanaman yang aktif dalam konsentrasi rendah (dapat $< 1 \text{ mM}$) merangsang, menghambat atau merubah pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan secara kuantitatif maupun kualitatif. Bisa dihasilkan oleh tanaman (alami/endogen) atau sintetik (eksogen). ZPT memiliki peran seperti mempercepat pembentukan akar bagi tanaman muda, membantu penyerapan unsur hara dari dalam tanah, mencegah pengguguran daun dan mempercepat proses fotosintesis. Dengan demikian, pemberian ZPT dapat berperan dalam meminimalisir kegagalan pada perbanyakan melalui teknik stek. Pemberian ZPT sebagai hormon eksogen tidak perlu diberikan terlalu banyak karena tanaman sudah menghasilkan hormon endogen secara mandiri (Javid et al, 2011).

Pada dasarnya ada lima macam kelompok hormon yang berperan pada tumbuhan, yaitu auxin, sitokinin, giberelin, absisin dan etilen. Berdasarkan aktivitas fisiologisnya fitohormon dibagi menjadi dua kelompok, yaitu: 1) memacu pertumbuhan (promoter) seperti auxin, giberelin, dan sitokinin, 2) menghambat pertumbuhan (inhibitor) seperti etilen dan ABA. Auxin dan giberelin secara langsung mempengaruhi pemanjangan sel. Sitokinin aktif dalam merangsang pembelahan sel, pembentukan tunas dan absisin berpengaruh menghambat pertumbuhan. Etilen satu-satunya hormon tumbuh yang berbentuk gas, berperan merangsang pemasakan buah dan kerontokan daun. Disamping hormon-hormon ini terdapat beberapa senyawa phenol yang dapat

mempengaruhi pertumbuhan tanaman misalnya coumarin dan cafein. Namun karena senyawa ini berpengaruh pada kadar yang tinggi maka tidak dapat dimasukkan pada hormon. Pertumbuhan tidak hanya dipengaruhi oleh salah satu hormon, tetapi merupakan hasil kerjasama antara kelima kelompok hormon tersebut.

Berdasarkan bahan aktifnya, auxin dikelompokkan menjadi empat, yaitu, indole, naftalen, phenoksi dan bensoat. Salah satu auksin dengan bahan aktif phenoksi adalah 2,4 D (2,4 Dicloro phenoksi Acetic Acid. Disamping itu, uksin dapat dibedakan menjadi auxin endogen (IAA) dan auxin sintesis, terdiri atas asam-asam indol (IAA, IBA), asam-asam naphtalen (NAA, NOA), asam-asam khlorophenoksi (2,4 D dan 2,4,5-T), asam-asam benzoic (Dicamba), dan asam-asam pikolinik (Tordon). Diantara berbagai jenis auxin sintetik tersebut, 2,4 D; 2,4,5-T, Dicamba dan Tordon adalah herbisida untuk gulma dikotil jika digunakan dalam konsentrasi tinggi tetapi dalam konsentrasi rendah bersifat sebagai auxin.

Auksin yang memiliki fungsi merangsang pertumbuhan dan merangsang pembelahan dan pembesaran sel. Auksin adalah zat hormon tumbuhan yang ditemukan pada ujung batang, akar, dan pembentukan bunga. Fungsi auksin adalah pengatur pembesaran sel dan memicu pemanjangan sel di daerah belakang meristem ujung, mempercepat pemasakan buah, mengurangi jumlah biji dalam buah, mempengaruhi aktivitas kambium dalam pembelahan sel dan pembentukan jaringan. Pada konsentrasi tertentu, auksin dapat mendorong fase perkembangan tetapi akan menghambat bila konsentrasinya dinaikkan, dan suatu konsentrasi yang mendorong pem-besaran sel pada pucuk mungkin akan menghambat pembesaran sel pada akar dari tum-buhan yang sama. Sifat kerja auksin bergantung pada kepekaan jaringan, konsentrasi auksin endogen di dalam jaringan atau keadaan fisiologis lain dari jaringan.

Sitokinin

Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang banyak didapatkan pada organ muda terutama ujung akar. Sitokinin berfungsi dalam memacu pembelahan sel, menunda penuaan daun dan meningkatkan aktivitas wadah penampung hara. Selain itu, sitokinin juga memacu perkembangan kloroplas dan sintesis klorofil sehingga proses penuaan dapat ditunda.

Giberelin

Seperti halnya auxin, peran giberelin pada tingkat sel dengan cara mempengaruhi sejumlah proses fisiologi yang belum dapat diterangkan secara jelas. Pada beberapa peristiwa peran giberelin itu berupa pemacuan terhadap sintesis RNA dan protein. Dalam hal ini terbentuknya enzim hidrolase merupakan efek giberelin yang paling besar, sehingga berbeda dengan auxin,

giberelin mampu memacu penguraian bahan organik cadangan misalnya pada biji yang berkecambah atau kuncup dorman yang tumbuh kembali. Peran giberelin terlihat nyata bila terdapat bersama dengan hormon lain, misalnya pembentukan enzim amilase pada perkecambahan biji merupakan kerjasama giberelin dengan sitokinin.

Absisin (Asam Absisat)

Absisin menghambat sintesis RNA karena efek alosterik. Absisin juga memacu produksi senyawa karbohidrat yang akan disimpan sebagai cadangan makanan. Absisin menghambat kerja ATPase, sehingga transport zat hara pada membran terhambat. Termasuk di sini hambatan masuknya K^+ ke dalam sel penutup stoma, sehingga stomata menutup. Absisin merupakan hormon yang menyebabkan tumbuhan mampu mempertahankan diri terhadap kekeringan. Pada jaringan tua absisin memacu sintesis etilen.

Gas Etilen

Sifat etilen yang lipofil tidak mempunyai pengaruh langsung terhadap enzim atau protein struktural dan kromosom. Diduga hanya bagian membran plasma yang bersifat lipid tempat kerjanya sehingga transport zat hara dan bahan organik pada membran ini berubah. Etilen mampu menghambat transport auxin di dalam parenkim. Proses ini menjadi penyebab terjadinya pengguguran daun dan buah.

Pengaruh etilen diduga juga berhubungan dengan persaingannya dengan CO_2 untuk memperoleh titik ikat yang sama, sehingga etilen mampu mempengaruhi enzim secara tidak langsung. Hal ini terlihat misalnya terjadinya pacuan etilen terhadap aktivitas enzim fenilalaninamoniumlyase dan selulase di zone pengguguran pada tangkai daun. Pengaruh pemberian etilen sangat berkurang bila pada saat yang sama diberikan CO_2 .

Percobaan 1: Uji Biologis 2,4-Dichlorophenoxyaceticacid pada Pertumbuhan Akar

Tujuan : Melihat pengaruh 2,4-D dalam perkecambahan dan pertumbuhan akar

Bahan dan Alat:

Bahan tanaman : 105 biji mentimun (*Cucumis sativus*) atau biji jenis tanaman lainnya

Bahan kimia : 10 ml larutan baku 2,4-D 100 ppm

Alat-alat : Kertas merang/saring, 6 buah cawan petri

Cara kerja:

1. Letakkan selebar kertas saring pada setiap cawan petri dari 6 cawan petri.
2. Dari larutan baku 2,4-D buat masing-masing 10 ml larutan-larutan 2,4-D dengan konsentrasisebagai berikut: 0.0; 0.001; 0.01; 0.1; 1.0 dan 10.0 mg/l.
3. Tandai setiap cawan petri dengan angka 1 sampai dengan 6. Tuangkan 10 ml larutan 2,4-D kedalam masing-masing cawan. Catat konsentrasi 2,4-D yang ada pada masing-masing cawan.
4. Letakkan 15 biji mentimun dalam masing-masing cawan petri. Simpan di tempat gelap selama5 hari.
5. Pada akhir percobaan ukur panjang akar primer setiap kecambah. Hitung panjang rata-ratapada masing-masing perlakuan.
6. Buatlah grafik yang memperlihatkan hubungan antara konsnetrasi 2,4-D dengan panjang akarprimer sehingga dapat diketahui pengaruh dari pemakaian 2,4-D dalam perrtumbuhan akar.

Percobaan 2. Sitokinin dan Senescence pada Daun Tanaman

Tujuan:

Untuk melihat bahwa sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang berperan dalam perlambatan proses senescence

Bahan dan alat:

Bahan tanaman : daun tanaman dalam kondisi segar

Bahan kimia : kinetin konsentrasi 0,00 ; 0,001 ; 0,01 ; 0,1 ; 1 mg/L,

aquadestAlat-alat : 5 petridisk, cork borer

Cara kerja

1. persiapkan potongan daun tanaman dengan ukuran proporsional menggunakan cork borermasing-masing 5 potongan daun untuk 5 perlakuan percobaan.
2. Persiapkan larutan perlakuan yang terdiri dari aquadest dan larutan kinetin (0,00 ; 0,001 ; 0,01 ; 0,1 ; 1 mg/L) masing-masing 10 mL dalam petridisk.
3. Tempatkan pada masing-masing larutan potogan daun kemudian tutup petridisk agar janganterjadi interaksi dengan lingkungan.
4. Amati apa yang terjadi pada warna daun tersebut selama satu minggu perendaman baikkontrol atau pada perlakuan dengan kinetin

ACARA 7. Fotosintesis

TUJUAN : Mengetahui pengaruh intensitas cahaya terhadap fotosintesis.

PENDAHULUAN

Fotosintesis merupakan aktivitas yang merubah karbon anorganik (CO_2) menjadi karbon organik oleh organisme berklorofil dengan adanya energi cahaya walaupun kadar karbon anorganik di udara relatif kecil (360 ppm), namun lewat proses fotosintesis mampu menyediakan sumber karbon organik (karbohidrat) bagi semua kehidupan organisme diplanet bumi ini.

Fotosintesis merupakan proses penting dalam memerankan siklus karbon dan memelihara level CO_2 di atmosfer sekaligus dalam waktu bersamaan juga memerankan siklus oksigen terutama pada organisme eukariotik.

Pada fotosintesis, dikenal ada reaksi terang (fase terang) dan reaksi gelap (fase gelap). Reaksi terang merupakan reaksi fotosintesis dimana energi cahaya di konversi menjadi energi kimia yang diperlukan dalam reaksi gelap. Telah dibuktikan bahwa cahaya sangat diperlukan dalam fotosintesis, misal dengan menutup sebagian permukaan daun yang sedang berfotosintesis dengan kertas timah agar terhindar dari pencahayaan, maka bila kemudian dilakukan uji amilum dengan larutan sodium (I. K. I), yang tidak tertutup akan menunjukkan warna biru - hitam, sedang yang tertutup akan nampak lebih transparan.

Untuk selanjutnya buatlah percobaan pengaruh intensitas cahaya terhadap fotosintesis.

BAHAN :

-Enam (6) bibit tanaman cabai, dan 6 bibit tanaman terong yang berumur 1 bulan yang sudah ditanam di pot.

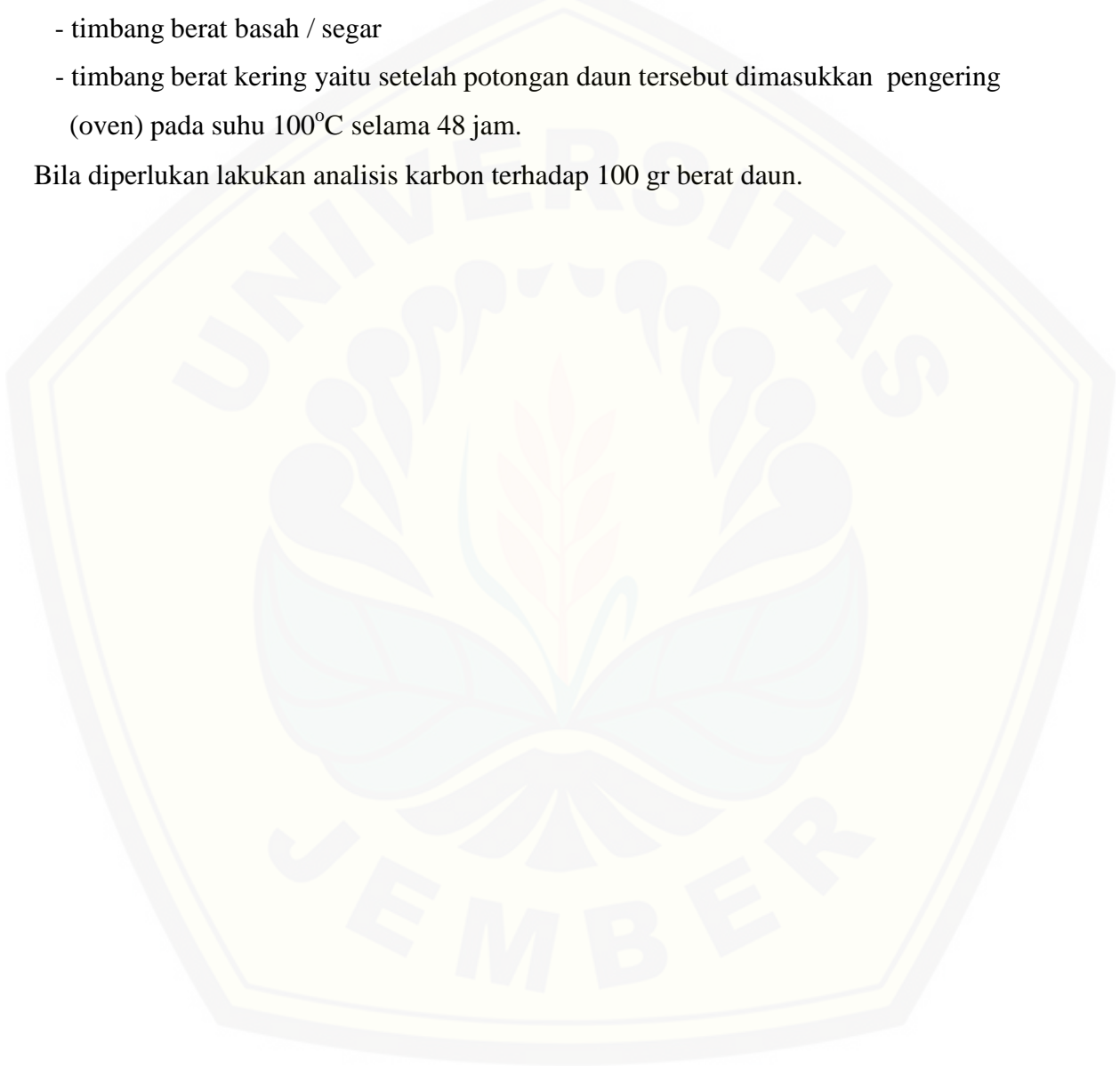
ALAT :

1. neraca analitis
2. oven
3. pervisorator

PROSEDUR :

1. Masing-masing tanaman ditempatkan :

- a) diruangan tanpa cahaya
 - b) diperlakukan dengan cahaya TL
 - c) diperlakukan dibawah cahaya matahari intensitas penuh.
2. Setelah 48 jam timbang berat daun dengan satuan luas yang sama dari masing-masing pelakuan diatas. (hasil potongan pervisorator sebanyak 30-50 buah).
- timbang berat basah / segar
 - timbang berat kering yaitu setelah potongan daun tersebut dimasukkan pengering (oven) pada suhu 100°C selama 48 jam.
3. Bila diperlukan lakukan analisis karbon terhadap 100 gr berat daun.



ACARA 8. Project Base (Small Research) Respon Pertumbuhan Beberapa Jenis Tumbuhan Terhadap Cekaman Salinitas

TUJUAN :

1. Mengamati respon pertumbuhan beberapa jenis tumbuhan terhadap cekaman salinitas
2. Membandingkan respon pertumbuhan tanaman jagung dengan kacang hijau/kacang tholo pada cekaman salinitas
3. Menentukan batas optimal toleransi cekaman salinitas pada tanaman uji (jagung, kacang hijau dan kacang tholo).

PENDAHULUAN

Cekaman abiotik seperti kekeringan, kadar garam tinggi (salinitas), suhu tinggi atau rendah, keasaman tanah, tercatat menurunkan hasil pertanian dunia sampai lebih dari 50%. Berbagai cekaman tersebut mengakibatkan perubahan-perubahan pada morfologi, fisiologi, dan biokimia, yang akhirnya akan berpengaruh buruk pada pertumbuhan tanaman serta produktivitasnya.

Cekaman garam merupakan suatu kondisi lingkungan yang mengandung garam terlarut yang berlebih. Cekaman garam merupakan kondisi lingkungan yang dapat membahayakan tanaman karena meningkatkan tekanan osmotik yang berakibat akar tidak mampu mengambil air dari lingkungan. Bahkan garam pada konsentrasi tertentu diketahui dapat menyebabkan kematian pada tanaman. Respons tanaman yang mengalami cekaman salinitas dapat merupakan perubahan di tingkat selular dan molekular yang ditunjukkan dengan penurunan laju pertumbuhan, berkurangnya luas daun dan peningkatan rasio akar : tajuk. Tingkat kerugian tanaman akibat cekaman dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain intensitas cekaman yang dialami, lamanya cekaman dan tahap pertumbuhan saat tanaman mengalami cekaman, jenis/spesies tumbuhan.

Tanaman yang mengalami cekaman garam pada fase awal mengalami stress osmotik yang dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan daun karena akumulasi ion yang berlebihan menyebabkan toksisitas pada tanaman. Tanaman akan mengalami penurunan penyerapan air, ketidakseimbangan hara dan toksisitas ion seiring bertambahnya konsentrasi garam dan akan mempengaruhi proses fotosintesis yang menyebabkan terganggunya proses metabolisme. Penyerapan air yang berkurang (tumbuhan kekurangan air) dapat menyebabkan penurunan kandungan klorofil daun yang merupakan respon dari tanaman. Respon fisiologis berdampak pada penurunan konsentrasi klorofil pada daun yang mengalami kekurangan air.

Respon fisiologis yang terjadi terdiri dari pembentukan klorofil yang terhambat, dan terhambatnya penyerapan unsur hara seperti nitrogen serta magnesium yang sangat dibutuhkan tanaman dalam sintesis klorofil. Penurunan kadar klorofil akibat tingginya konsentrasi NaCl terjadi juga pada barley dan daun *Capsicum annum* L. Selain terhadap konsentrasi klorofil, cekaman salinitas juga menyebabkan penurunan aktivitas fotosintesis (penurunan aktivitas enzim rubisco) akibat penutupan stomata daun yang akan menurunkan konsentrasi CO₂ seluler. Pengaruh buruk cekaman terhadap fotosintesis akan dimediasi dengan tanggap terhadap (1) sistem respirasi transport elektron, sintesis ATP pada mitokondria; (2) akumulasi metabolit yang diinduksi oleh cekaman kekeringan dan (3) ekspresi gen dan sintesis protein.

Pengukuran karakter fisiologi seperti kandungan klorofil, merupakan salah satu pendekatan untuk mempelajari pengaruh cekaman terhadap pertumbuhan dan hasil produksi, karena parameter ini berkaitan erat dengan laju fotosintesis. Klorofil adalah pigmen pemberi warna hijau pada tumbuhan, alga dan bakteri fotosintetik. Pigmen ini berperan dalam proses fotosintesis tumbuhan dengan menyerap dan mengubah energi cahaya menjadi energi kimia. Klorofil mempunyai rantai fitil (C₂₀H₃₉O) yang akan berubah menjadi fitol (C₂₀H₃₉OH) jika terkena air dengan katalisator klorofilase. Fitol adalah alkohol primer jenuh yang mempunyai daya afinitas yang kuat terhadap O₂ dalam proses reduksi klorofil. Klorofil menyerap cahaya yang berupa radiasi elektromagnetik pada spektrum kasat mata (*visible*). Cahaya matahari mengandung semua warna spektrum kasat mata dari merah sampai violet, tetapi tidak semua panjang gelombang diserap dengan baik oleh klorofil. Tanaman tingkat tinggi mempunyai dua macam klorofil yaitu klorofil a (C₅₅H₇₂O₅N₄Mg) yang berwarna hijau tua dan klorofil b (C₅₅H₇₀O₆N₄Mg) yang berwarna hijau muda. Klorofil a dan klorofil b paling kuat menyerap cahaya di bagian merah (600- 700 nm), dan paling sedikit menyerap cahaya hijau (500-600 nm).

Tanaman toleran mampu mempertahankan fungsi biologinya pada kondisi cekaman salinitas (kekurangan air) walaupun dengan pertumbuhan yang terbatas. Tanaman toleran memiliki mekanisme untuk mengatasi kekurangan air salah satunya yaitu dengan adaptasi morfologi seperti mengurangi luas daun untuk menurunkan laju transpirasi, penutupan stomata, atau meningkatkan pemanjangan dan densitas akar dan meningkatkan efisiensi penggunaan air (Ramanjulu dan Bartels 2002).

BAHAN DAN ALAT YANG DIPERLUKAN

BAHAN : bibit tanaman (jagung, kedelai, kacang koro, kacang polong dan kacang merah) umur 1 bulan (4minggu), pupuk kandang, aquades, pupuk organik, pupuk kandang, larutan 1% Sodium hypochlorite (NaOCl)/Bayclin, pupuk anorganik Urea (75 kg/ha), kg/ha), Furadan 3G dan insektisida untuk pengendalian hama dan penyakit.

ALAT : *polybag* ukuran sedang (20 cm x 25 cm), timbangan tanah, timbangan analitik, oven, gelasbeker, mikropipet, *hand sprayer*, cethok/cangkul kecil, *medline*/penggaris, kertas label, kaliper, gelasbenda, alat ukur kandungan klorofil daun (corong, kertas whatman, batang pengaduk, spektrofotometri). dan tisu.

PROSEDUR

Percobaan ini dilakukan dengan menggunakan satu factor perlakuan yaitu konsentrasi kadar garam (K) yang terdiri dari :

K0; 0 ppm

K1: 1000 ppm

K2: 2000 ppm

K3: 3000 ppm

Setiap kelompok mengerjakan satu jenis tumbuhan (sesuai undian) dengan perlakuan konsentrasi kadar garam K0 sd K3 yang diberikan sesuai perlakuan setiap 2 hari sekali sebanyak 4-6x dan masing-masing dengan 3 kali pengulangan. Jadi setiap kelompok mengerjakan 12 *polybag*, tiap *polybag* berisi 3 individu tanaman uji. Tiga *polybag* tersebut akan digunakan dengan rincian sebagai berikut 2 *polybag* untuk pengukuran parameter pertumbuhan dan satu *polybag* dibiarkan sampai masa panen.

UJI DAYA TUMBUH BENIH TANAMAN UJI

Benih tanaman uji terlebih dahulu perlu dilakukan uji perkecambahan. Uji perkecambahan dimaksudkan untuk mengetahui daya tumbuh benih tanaman uji yang dilakukan dengan cara mengecambahkan benih tanaman uji sebanyak 20 ke dalam petridish yang sebelumnya sudah diberi alas kertas saraing atau kapas yang sudah dibasahi. Taruh peridish tersebut pada temperatur kamar dan amati biji yang berkecambah setiap hari. Daya tumbuh biji dapat dihitung

dengan cara menjumlah biji yang berkecambah dibagi jumlah total biji dikalikan 100%.

PENYIAPAN BENIH

Benih yang akan digunakan pada penelitian diseleksi dengan cara direndam dengan air dan memperhatikan keutuhan seluruh permukaan benih. Benih yang mengambang di atas permukaan air disingkirkan sedangkan benih yang tenggelam dan memiliki permukaan yang utuh dijadikan sebagai benih. Benih yang telah diseleksi kemudian disterilisasi dengan merendam biji di dalam larutan 1% Sodium hypochlorite (NaOCl)/Bayclin selama 10 menit.

MEDIUM TANAM

Media tanam yang digunakan adalah tanah tanam dan dicampur dengan pupuk kandang/pupuk kandang. Tanah yang telah dicampur tersebut dimasukkan ke dalam polybag yang dengan berat sekitar 2-3 kg per polybag pada kondisi kapasitas lapang.

PENGUKURAN KAPASITAS LAPANG (KL)

1. KL dilakukan untuk memperoleh volume penyiraman. Tanah kering angin dalam *polybag* diletakkan di atas wadah dan disiram dengan air sampai menetes, selanjutnya dibiarkan beberapa saat sampai air tidak menetes lagi dari *polybag*. Kapasitas lapang merupakan selisih antara volume siram dengan volume tetes.
2. Sebanyak 500 g tanah yang telah dioven diambil kemudian dimasukkan pada wadah yang berpori pada bagian dasar/alasnya. Tanah tersebut kemudian diberi air sampai menggenangi wadah tersebut (jenuh)/menetes selanjutnya dibiarkan selama 48 jam (2 hari) sampai air tidak menetes lagi. Air yang menetes dari wadah tersebut ditampung kemudian diukur volumenya. Jumlah air kapasitas lapang pada tanah tersebut adalah jumlah air yang diberikan dikurangi dengan jumlah air yang berada pada wadah penampung. Jumlah air yang terikat dalam tanah ditetapkan sebagai 100% kapasitas lapang.

PENANAMAN DAN PEMELIHARAAN

Tanaman bibit disiram setiap hari sampai umur 4 MST. Pemeliharaan tanaman dilakukan dengan penyiangan terhadap gulma dan pengendalian hama penyakit.

PEMUPUKAN

Dosis pupuk yang diberikan yaitu Urea (75 kg/ha), SP-36 (100 kg/ha), KCl (100 kg/ha) yang setara dengan Urea (0,375 gram/polybag), SP-36 (0,5gram/polybag), dan KCl

(0,5gram/polybag). Perhitungan pupuk tersebut dengan berat medium tanam 10 kg/polybag. Pemupukan Urea dilakukan dua kali yaitu pemupukan pertama pada saat awal tanam dan pemupukan kedua pada saat tanaman berumur 21 HST.

PERLAKUAN CEKAMAN SALINITAS

Bibit tanaman dalam pot setelah dilakukan penjarangan dan sudah berumur 4 MST selanjutnya dilakukan perlakuan cekaman Sali nitas dengan cara memberikan larutan garam sesuai perlakuan setiap 2 , 4, 6 hari sekali sampai 4-6 kali. Volume larutan garam yang diberikan per polybag sesuai dengan kapasitas lapang.

PARAMETER PENGAMATAN

Pengukuran pertumbuhan meliputi tinggi, diameter batang, jumlah daun, fotosintesis daun, analisa kadar klorofil, berat basah dan berat kering (akar, batang dan daun), aktivitas antioksidan dan enzim Nitrat reduktase (ANR)

Pengukuran tinggi: diukur dari bagian batang yang berada di atas permukaan tanah sampai bagian titik tumbuh apikal.

Pengukuran diameter batang: dilakukan pada bagian yang terletak 1 cm diatas permukaan tanah dengan menggunakan kaliper.

Jumlah daun: daun yang dihitung adalah daun yang telah membuka dengan sempurna.

Pengukuran berat basah: dilakukan dengan cara menimbang bagian tumbuhan (akar/batang/daun) yang masih segar.

Pengukuran berat kering: dilakukan dengan menimbang bagian tumbuhan (akar/batang/daun) yang telah dikeringkan menggunakan oven selama 48 jam pada suhu 80° C untuk menghilangkan air dan mencapai berat kering konstan.

Kandungan Klorofil Daun

1. Helaian daun (lamina) tiap sampel diambil sebanyak 1gram, dihaluskan dan diekstraksi dengan alkohol 95% sampai semua klorofil terlarut. Ekstrak tersebut disaring dan supernatant ditampung dalam labu ukur 100 mL kemudian ditambahkan alkohol 95% sampai volume 100 mL. Ekstrak dipindahkan ke dalam tabung reaksi, dan dimasukkan ke dalam termos yang berisi es. Kandungan klorofil diukur dengan spektrometer pada λ 649 dan 665 nm. Kadar klorofil total dihitung dengan rumus Wintermans dan de Mots dalam Dahlia, (2001) :

$$\text{Klorofil Total (mg/L)} = 20 (\text{OD}) + 6,1 (\text{OD})$$

Keterangan: OD (optical density) = nilai absorbansi klorofil

Kandungan klorofil (klorofil a dan klorofil b) dihitung menggunakan metode Arnon yaitu 1 gram sampel daun segar dibersihkan kemudian dibentuk menggunakan bor ukuran 6 mm (atau dipotong

$$\text{Total klorofil (a+b)} = (8.02 E663 + 20.20 E645)/FW$$

$$\text{Klorofil a} = (12.7 E663 - 2.69 E645)/FW$$

$$\text{Klorofil b} = (22.9 E645 - 4.68 E663)/FW$$

bentuk dadu kecil-kecil). Sampel daun tersebut dihaluskan dengan mortar, setelah sampel tersebut halus kemudian ditambahkan aseton 80% dan dituang ke dalam tabung reaksi yang selanjutnya disimpan sementara dalam freezer untuk mencegah terjadinya degradasi klorofil. Setelah selesai digiling/dihaluskan dan diberi aseton, sampel kemudian disentrifugasi untuk memisahkan ampas dan larutannya. Ampas dibiarkan tetap dalam tabung reaksi sementara larutan dimasukkan ke dalam botol plastik dan disimpan dalam freezer. Pada tabung reaksi yang berisi ampas ditambahkan 3 ml aseton 80% dicampur menggunakan mixer dan disentrifus kembali. Larutan yang terpisah dari ampas dimasukkan ke dalam botol plastik. Seluruh larutan dari botol plastik dituang ke dalam labu ukur dan ditambahkan aseton 80% sampai volume mencapai 25 ml. Absorbansi larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 645 nm dan 663 nm. Konsentrasi klorofil dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

Keterangan :

a : Klorofil a

b : Klorofil b

E663 : Nilai absorban pada panjang gelombang 663 nm

E645 : Nilai absorban pada panjang gelombang 645 nm

FW : *Fresh weight*

Analisa kadar prolin menggunakan metode (Bates, Waldren, & Teare, 1973) dengan cara sebagai berikut: Akar ditumbuk sebanyak 0,5 g dalam larutan asam sulfosalisilat 3% sebanyak 10 ml kemudian disaring menggunakan kertas saring *whatman* No. 1, hasil saringan/filtrate dijadikan menjadi 10 ml dengan menambahkan sulfosalisilat 3%. Filtrat diambil sebanyak 2 ml dan direaksikan dengan 2 ml asam Ninhydrin. Filtrat yang telah ireaksikan dengan asam

Ninhydrin ditambah dengan 2 ml asam asetat glasial kemudian dipanaskan pada suhu 100 C selama 1 jam. Tabung reaksi yang berisi filtrat dan telah dipanaskan dimasukkan ke dalam gelas piala yang berisi es. Campuran antara filtrat, Ninhydrin dan asam asetat glasial dicampur dengan 4 ml toluen dan digojog dengan *stirrer* selama 15-20 detik. Setelah digojog dengan *stirrer* maka akan terbentuk dua lapisan cairan dengan warna berbeda. Toluena berwarna merah yang mengandung prolin dipisahkan dengan corong pemisah dan diukur volumenya serta dibaca OD-nya dengan panjang gelombang 520 nm. Untuk Penghitungan kadar prolin dilakukan dengan pembuatan prolin standar dengan melarutkan 11,5 g prolin (C₅H₉NO) dalam 100 ml *toluene* sehingga diperoleh 1 M prolin. Selanjutnya dari larutan stok prolin 1 M dibuat larutan prolin dengan variasi konsentrasi prolin 0,0 M; 0,2 M; 0,4 M; 20,6 M; 0,8 M; dan 1 M (Triani, 2013).

Indeks stomata daun

Pembuatan preparat sampel stomata daun dilakukan dengan cara permukaan daun bagian bawah diolesi lem alteco kemudian ditemplei dengan mika yang telah dipotong dengan ukuran 1,5 x 1,5 cm. Setelah kering, mika dilepaskan dari daun sehingga tampak cetakan daun sampelnya pada mika (Triani, 2013).

Perhitungan indeks stomata dilakukan dengan menggunakan rumus berikut (Andini, 2011) :

$$\text{Index stomata} = \frac{\text{Jumlah stomata}}{\text{Jumlah stomata} + \text{Jumlah epidermis}} \times 100\%$$

Fotosintesis

Timbang berat daun dengan satuan luas yang sama dari masing-masing pelakuan (K0-K3) (hasil potongan perovorator sebanyak 30-50 buah) (berat basah/segar). Potongan daun setelah ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam oven/pengering pada suhu 100°C selama 48 jam dan timbanglah berat kering sampel daun tersebut..

UJI AKTIVITAS ENZIM NITRAT REDUKTASE

ALAT :

1. Alu + Mortar
2. Tabung Film Gelap
3. Timbangan Analitik

4. Gunting
5. Mikropipet 100-1000 μ l
6. Mikropipet 10-100 μ l
7. Spektrofometer

BAHAN

1. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ pada pH 7,5 (Buffer fosfat)
2. NaNO_3
3. sulfanilamide 1%
4. naphylethylendiamide 0,02%
5. 1N HCl

PROSEDUR KERJA

Analisis aktivitas nitrat reduktase dilakukan berdasarkan (Ende dkk., 2022)

1. Daun ketiga dari pucuk tanaman sampel dipetik sekitar jam 9-10 pagi sebagai sampel pengamatan.
2. Daun tersebut ditimbang sebanyak 200 mg.
3. Larutan buffer $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ pada pH 7,5 (Buffer fosfat) dimasukkan dalam tabung film gelap masing-masing sebanyak 5 ml.
4. Daun yang telah ditimbang tadi, digunting kecil-kecil dan dimasukkan kedalam tabung film gelap yang sudah berisi buffer fosfat, kemudian ditutup dan direndam selama 24 jam.
5. Setelah 24 jam, larutan buffer dibuang dan diganti dengan larutan buffer yang baru sebanyak 5 ml.
6. Kemudian ditambahkan 0,1 ml 5M NaNO_3 pada tiap tabung film gelap. Waktu penambahan NaNO_3 dinyatakan sebagai waktu inkubasi 0. Inkubasi sampel dilakukan selama 2 jam.
7. Setelah 2 jam, dalam tabung reaksi yang lain (tabung reaksi bening) diisikan reagen 0,2 ml sulfanilamide 1% yang dilarutkan dalam 0,2 ml 1N HCl kemudian ditambahkan lagi dengan 0,2 ml larutan naphylethylendiamide 0,02% (Pembuatan Larutan Pewarna)
8. Kemudian 0,1 ml filtrat yang telah diinkubasi selama 2 jam tadi, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi larutan pewarna.
9. Tabung reaksi dikocok agar filtrat bercampur untuk mempercepat reaksi, didiamkan sekitar 5 menit sehingga terjadi reduksi NO_2^- dengan reagen pewarna yang akan memunculkan warna merah muda.
10. Selanjutnya ditambahkan aquades sebanyak 2,5 ml pada tabung reaksi sebagai pengencer

warna. Larutan dalam tabung reaksi dimasukkan ke dalam kuvet spektrofotometer untuk diamati absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm.

Catatan : : Untuk bangko/ standart tanpa eluate hanya pewarna dan aquades dengan total volume yang sama

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE DPPH

ALAT :

1. Spektrofotometer
2. Timbangan Analitik
3. Labu Ukur 50 ml

BAHAN

1. Larutan DPPH
2. Metanol PA dan Teknis
3. Vitamin C

PROSEDUR KERJA

Analisis aktivitas nitrat reduktase dilakukan berdasarkan (Erika, 2018)

A. Uji Akrivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

1. Ditimbang 2 mg DPPH dilarutkan dalam 50 ml metanol PA sehingga diperoleh larutan DPPH konsentrasi 0,1 mM.
2. Buatlah larutan uji (larutan induk) dari ekstrak sampel konsentrasi 10.000 ppm dengan cara menimbang 100 mg *crude extract* yang telah dikeringkan dan ditambah dengan 10 ml methanol.
3. Dari larutan induk konsentrasi 10.000 ppm tersebut akan dibuat menjadi beberapa konsentrasi larutan yaitu 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, dan 1000 ppm.
4. Larutan Uji dengan masing-masing konsentrasi (no.3) dipipet sebanyak 0,30 ml dan ditambah dengan larutan DPPH 1,20 ml.
5. Sampel tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan kondisi ruang gelap.
6. Absorbansi larutan uji akan ditentukan dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 517 nm.

B. Pembuatan Larutan Pembanding DPPH

Sebagai larutan pembanding DPPH adalah larutan vitamin C. Pembuatan larutan pembanding vitamin C diawali dengan pembuatan larutan stok vitamin C.

1. Pembuatan larutan stok vitamin C dibuat dengan cara timbanglah 25 mg vitamin C kemudian tambahkan 25 ml metanol (menghasilkan konsentrasi 1000 ppm).
2. Pipetlah 1 ml larutan stok dan tambahkan 9 ml etanol (dihasilkan konsentrasi 100 ppm).
3. Dari larutan vitamin C konsentrasi 100 ppm tersebut kemudian buatlah menjadi beberapa seri konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm.
4. Larutan uji vitamin C masing masing konsentrasi (nomor 3) dipipet sebanyak 0,30 ml dan ditambah dengan larutan DPPH 1,20 ml.
5. Sampel tersebut kemudian diinkubasi selama 30 menit dengan suhu ruang dan kondisi ruang gelap.
6. Absorbansi akan ditentukan dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 517 nm.

C. Perhitungan nilai IC_{50} berdasarkan (Bloid, 1958)

Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan presentase perendaman terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dengan persamaan :

$$\% \text{ Inhibisi DPPH} = \frac{\text{Abs X} - \text{Abs Y}}{\text{Abs X}} \times 100\% \dots\dots\dots(3.1)$$

Keterangan :

Abs X = absorbansi serapan radikal DPPH (blanko)

Abs Y = absorbansi serapan sampel dalam radikal DPPH

Nilai persen perendaman dari masing-masing konsentrasi yang diperoleh kemudian digunakan untuk perhitungan secara regresi linier menggunakan persamaan :

$$y = a + bx \dots\dots\dots(3.2)$$

Keterangan :

x = konsentrasi (ppm)

y = presentase perendaman (%)

Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50 atau dapat disederhanakan melalui persamaan sebagai berikut :

$$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b} \dots\dots\dots(3.3)$$

DAFTAR PUSTAKA

- Ende, S., I. Kadekoh, dan S. Darman. 2022. Aktivitas nitrat reduktase (nr) tanaman jagung pada pola tumpangsari yang diberi serasah jagung-kedelai serta biochar di lahan suboptimal sidondo sulawesi tengah (nitrate reductase activity (nra) of corn plants in intercropping patterns with corn-so. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 27(4):544–551.
- Erika, D. R. 2018. Penetapan Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Paku Epifit Di Kawasan Kampus Universitas Jember Dengan Metode DPPH. Universitas Jember.
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross. 1992. *Plant Physiology*. 4rd Ed. Wadsworth. Publishing Company. California.
- Suyitno, A. 2003. Penuntun Praktikum Fisiologi Tumbuhan Dasar. Program Studi Biologi-JURDIK Biologi. akultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Tim Pengajar Fisiologi Tumbuhan. 2027. Penuntun Praktikum Fisiologi Tumbuhan Dasar (BIO231). Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Wiraatmaja, I.W. 2017. Bahan Ajar Zat Pengatur Tumbuh Auksin dan Cara Penggunaannya Dalam Bidang Pertanian. Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana.