



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**PENGARUH DARI INFEKSI JAMUR *Fusarium axysporum* f. sp  
cubense TERHADAP AKTIVITAS ENZIM PHENILALANINE  
AMMONIA-LYASE (PAL) DAN KADAR ASAM SALISILAT PADA  
PISANG JANTAN (*Musa paradisiaca* cv. Jantan)**

**SKRIPSI**



**RAGIL MARWA**  
**06 932 018**

**JURUSAN KIMIA**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS ANDALAS**  
**PADANG 2012**

**PENGARUH DARI INFEKSI JAMUR *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense*  
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM PHENILALANINE AMMONIA-LYASE  
(PAL) DAN KADAR ASAM SALISILAT PADA PISANG JANTAN**

**(*Musa paradisiaca* cv. *Jantan*)**

**OLEH**

**Ragil Marwa (06932018)**

**Prof. Dr. Abdi Dharma MSc<sup>1</sup>, Dr. Adlis Santoni M.Si<sup>2</sup>**

- 1. Pembimbing I**
- 2. Pembimbing II**

**ABSTRAK**

Penyakit layu *Fusarium* merupakan salah satu penyakit yang menyerang tanaman pisang jantan yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense* (FOC) yang bersifat patogen. Infeksi jamur *Foc* ini mampu menginduksi sistem pertahanan tanaman pisang, terutama berupa aktivasi enzim-enzim ketahanan serta senyawa-senyawa yang bersifat anti terhadap patogen tersebut. Pada penelitian ini dianalisis aktivitas enzim ketahanan phenilalanine ammonia-lyase (PAL) dan produksi asam salisilat sebagai repon awal pertahanan bibit pisang jantan terhadap infeksi jamur *Foc*. Aktivitas enzimatik PAL ditentukan dengan mengukur kosentrasi produk dengan spektrofotometer UV-VIS, sedangkan analisa produksi asam salisilat di gunakan HPLC . Kedua indikator ini dianalisis berdasarkan variasi waktu 0, 12, 24, 36, dan 48 jam. Aktifitas enzim PAL mengalami kenaikan dari kontrol setelah infeksi, sedangkan kandungan asam salisilat mengalami penurunan dari kontrol setelah infeksi, tetapi terus mengalami kenaikan hingga 48 jam setelah infeksi walaupun belum melebihi kontrol. Dari data ini dapat disimpulkan bahwa Pisang jantan bisa memberikan respon pertahanan sejak dari awal infeksi. Hal ini diduga menjadi salah satu penjelasan kenapa pisang jantan lebih tahan terhadap infeksi *Fusarium*.

**Kata kunci** : Pisang jantan, jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cubanse*, phenilalanine ammonia lyase (PAL), Asam salisilat.

**THE EFFECT OF *Fusarium oxysporum* f. sp *cabense* INFECTION TO THE PHENYLALANINE AMMONIA-LYASE (PAL) ENZYMATIC ACTIVITY AND SALYSILIC ACID CONTENT IN BANANA (*Musa paradiciaca* cv. *Jantan*)**

**By  
Ragil Marwa (06932018)**

**Prof.Dr.Abdi Dharma MSc<sup>1</sup>, Dr. Adlis Santoni M.Si<sup>2</sup>**

- 1. Advisor I**
- 2. Advisor II**

The Fusarium wilt is one of disease which attack the banana cultivar Jantan caused by the pathogenic *Fusarium oxysporum* f.sp *cabense* (*Foc*). The infection of *Foc* induces the defense system of banana plant, mainly on the activation of resistance enzymes and anti-pathogenic compounds. In this research, the activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) enzyme and the production of salicylic acid were analyzed as the early defense response of banana (*Musa paradiciaca* cv. *Jantan*) culture to the infection of *Foc*. PAL enzymatic activity was measured by product's concentration with UV-Vis spectrophotometer, while the production of salicylic acid was measured by high performance liquid chromatography (HPLC). These two indicators were analyzed based on the 0; 12; 24; 36; and 48 of time variation. The activity of PAL enzyme was raised from control after the infection, while the salicylic acid content was decreased from control after the infection, but raised after until 48 hours of infection though were not over the control. Based on the data, it can be concluded that banana (*Musa paradiciaca* cv. *Jantan*) could give the defense response since the infection. This would be one explanation why banana cultivar Jantan is more resistance to the infection of *Foc*.

**Keywords:** Banana (*Musa paradiciaca* cv. *Jantan*), *Fusarium oxysporum* f.sp *cabense*, phenylalanine ammonia-lyase (PAL), Salicylic Acid



## KATA PENGANTAR



Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT, berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **Pengaruh Dari Infeksi Jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Terhadap Aktivitas Enzim Phenilalanine Ammonia-Lyase (PAL) Dan Kadar Asam Salisilat Pada Pisang Jantan (*Musa paradisiaca* cv. *Jantan*)** dapat diselesaikan dengan baik. Shalawat serta salam tercurahkan kepada Rasulullah SAW.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Abdi Dharma, selaku pembimbing I dan Dr. Adlis Santoni, M.Si selaku pembimbing II yang telah memberikan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam penelitian dan menyusun skripsi ini.

Ucapan terima kasih yang tak terhingga penulis sampaikan kepada Ayahanda dan Ibunda tercinta serta kakanda atas semua doa, kasih sayang serta dukungan yang tidak terhingga, baik moril maupun materil.

Selanjutnya ucapan terima kasih juga disampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Emriadi selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.
2. Bapak Dr. Adlis Santoni, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Andalas, Padang.
3. Ibu Prof. Dr. Sumaryati Syukur, M.Sc selaku kepala Laboratorium Biokimia UNAND.
4. Bapak Prof. Dr. Hermansyah Aziz selaku pembimbing akademik yang telah memberikan pengarahan selama penulis menjalani perkuliahan di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas, Padang.
5. Tim Laboratorium Kultur Jaringan Parak Kopi, Padang yang telah banyak membantu dalam kelancaran penelitian ini.
6. Fitrinayanti, Amd selaku analis Laboratorium Biokimia UNAND, serta analis labor kimia lainnya.



7. Semua Dosen dan Karyawan Jurusan Kimia Universitas Andalas yang telah memberikan ilmu dan semangat.
8. Teman-teman sepenelitian Kultur Jaringan pisang Billy dan Tinov yang telah memberikan masukan dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Teman-teman sepenelitian bidang Biokimia: Aphe, serta rekan-rekan peneliti bidang Biokimia angkatan 2007 dan 2008.
10. Home sweet home (Dedy, Hendra, Hendry, Deni, Alhadi) dan anggota UGD (Taufik, Arie ting, Jack saparo, Rian bel, Rio, Rendy, Stevanus). Sesepeuh Kimia Kiki Kurniawan MSi yang telah banyak membantu dalam mendapatkan gelar SSi.
11. Keluarga besar Mandiri 06` (Sari, Aya, Welly, Shely, Rahmi, Imem, dan teman-teman Mandiri lainnya) yang telah banyak memberikan masukan dan dukungan.
12. Keluarga besar Zokure (Angkatan 2006) yang telah memberikan dukungan.

Tiada hal lain yang dapat menggantikan semua bantuan, dukungan, kerjasama maupun bimbingan dari seluruh pihak yang telah disebutkan, maupun yang tidak tersebutkan di atas, selain doa dan ucapan terima kasih, kiranya Allah SWT berkenan membalas semua yang telah diberikan kepada penulis.

Padang, Januari 2012

Penulis

## DAFTAR ISI

### Halaman

<b>ABSTRAK</b> .....	ii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iv
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	ix
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	x
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan .....	3
1.4 Manfaat .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Kultur Jaringan.....	4
2.2 Pisang Jantan ( <i>Musa paradisiacal cv. Jantan</i> ).....	5
2.3 <i>Jamur Fusarium oxysporum f.sp Cubense</i> .....	7
2.4 Mekanisme Pertahanan Pisang Jantan Terhadap Infeksi <i>Fusarium</i> berupa systemic acquired resistance (SAR).....	10
2.5 Peranan Enzim Phenilalanine Ammonia-Lyase (PAL) Sebagai Enzim Pertahanan Terhadap Infeksi <i>Jamur Fusarium</i> <i>oxysporum f.sp Cubense</i> (FOC).....	11
2.6 Produksi Asam Salisilat Sebagai Indikator Infeksi <i>Jamur Fusarium oxysporum f.sp Cubense</i> (FOC) Terhadap Kultur Pisang Jantan .....	12
<b>III. METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	15
3.2 Alat dan Bahan .....	15
3.2.1 Alat .....	15
3.2.2 Bahan .....	15
3.3 Prosedur Penelitian .....	16
3.3.1 Persiapan Materi Penelitian .....	16

3.3.2 Sterilisasi Bahan dan Alat .....	16
3.3.3 Pembuatan Media MS .....	16
3.3.4 Sterilisasi Eksplan Pisang Jantan .....	16
3.3.5 Persiapan Jamur .....	17
3.3.6 Inokulasi Jamur .....	17
3.3.7 Ekstraksi Planlet Untuk Analisis Enzim dan Protein .....	18
3.3.8 Ekstraksi Planlet Untuk Analisis Asam Salisilat.....	18
3.3.9 Uji Alktivitas Enzim Phenilalanine Ammonia-Lyase (PAL	18
3.3.10 Uji Kadar Protein .....	18
3.3.11 Analisis Asam Salisat Dengan HPLC .....	19
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil Kultur Pisang Jantan .....	20
4.2 Hasil Biakan Jamur <i>Fusarium oxysforum f sp cubense</i> .....	23
4.3 Efek Infeksi Jamur <i>Fusarium oxysforum f.sp cubence</i> (FOC) Terhadap Kadar Protein .....	22
4.4 Pengaruh Infeksi Jamur <i>Fusarium oxysforum f. sp cubense</i> (FOC) Terhadap Aktivitas Enzim Phenilalanine Ammonia-Lyase (PAL) ....	25
4.5 Pengaruh Infeksi Jamur <i>Fusarium oxysforum f. sp cubense</i> Terhadap Produksi Asam Salisilat .....	26
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan .....	28
5.2 Saran .....	28
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	29
<b>LAMPIRAN</b> .....	31



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data Morfologi Tanaman Pisang Jantan .....	6
2. Memperlihatkan Hasil pertumbuhan Planlet dan Yang Terkontaminasi	23

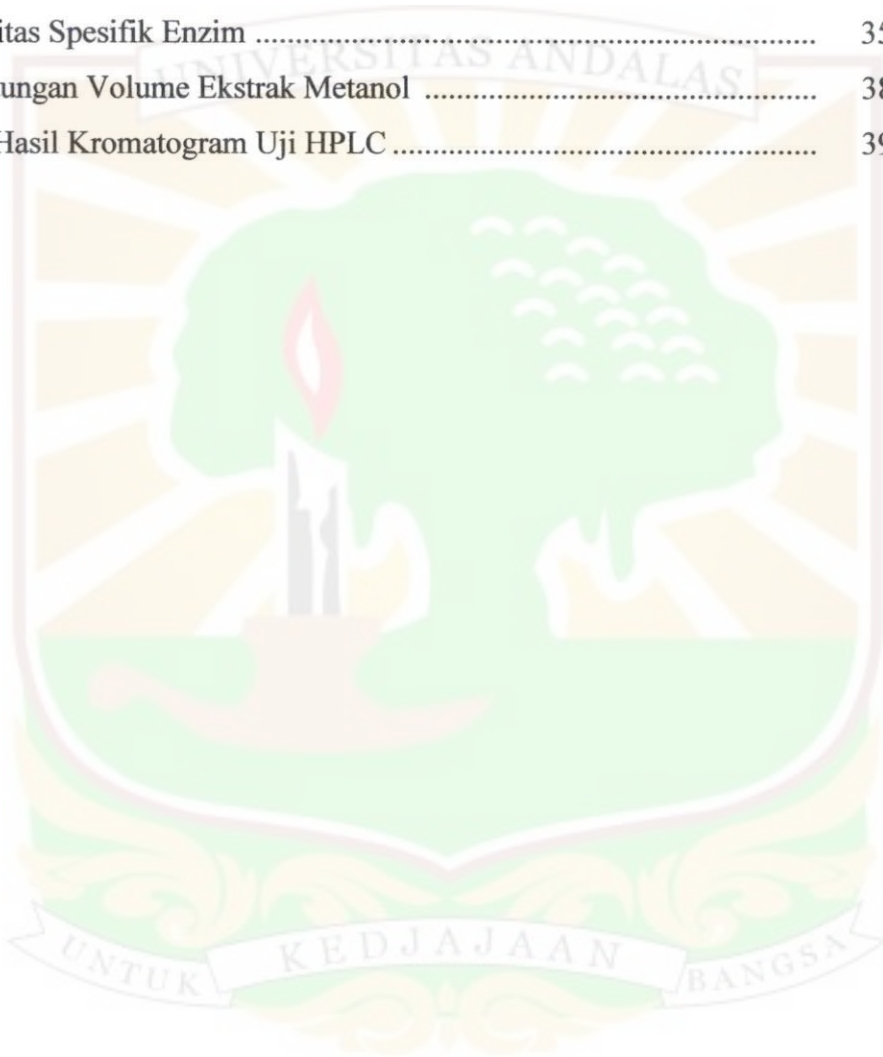


## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pisang Jantan .....	5
2. Gejala Penyakit <i>Fusarium</i> .....	8
3. Mekanisme Korelasi Enzim PAL dan Asam Salisilat Pada Jalur Shikimat .....	12
4. Asam Salisilat .....	13
5. Pertumbuhan Planlet ..	20
6. Media Yang Mengalami <i>Browning</i> .....	21
7. Kontaminasi Oleh Bakteri dan Jamur .....	22
8. Efek Infeksi Jamur <i>Fusarium oxysporum f sp cubense</i> (FOC) Terhadap Kadar Protein .....	24
9. Pengaruh Infeksi Jamur <i>Fusarium oxysporum f sp cubense</i> (FOC) Terhadap Aktivitas Enzim Phenilalanine Ammonia-Lyase (PAL) .....	25
10. Pengaruh Infeksi <i>Foc</i> Terhadap Aktivitas Spesifik Enzim PAL.....	26
11. Pengaruh Infeksi Jamur <i>Fusarium oxysporum f sp cubense</i> (FOC) Terhadap Kandungan Asam Salisilat .....	26
12. Kromatogram HPLC standar asam salisilat (400 ppm) .....	40
13. Kromatogram HPLC kontrol setelah infeksi.....	41
14. Kromatogram HPLC sampel 12 jam setelah infeksi .....	41
15. Kromatogram HPLC sampel 24 jam setelah infeksi .....	42
16. Kromatogram HPLC sampel 36 jam setelah infeksi .....	42
17. Kromatogram HPLC sampel 48 jam setelah infeksi .....	43

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Perhitungan Koloni Jamur <i>Fusarium Oxysporum</i> f.sp <i>cubance</i> ..	31
2. Data Komposisi Media MS .....	32
3. Data Kalibrasi Standar BSA Untuk Uji Protein .....	33
4. Data Nilai Kadar Protein .....	34
5. Perhitungan Reagen Uji Enzim PAL, Aktivitas Enzim PAL dan Aktivitas Spesifik Enzim .....	35
6. Perhitungan Volume Ekstrak Metanol .....	38
7. Data Hasil Kromatogram Uji HPLC .....	39





## Bab I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Pisang (*Musa spp*) merupakan tanaman yang berasal dari Asia Tenggara dan kini sudah tersebar luas ke seluruh dunia, termasuk Indonesia. Produksi pisang pada tahun 2000 adalah 3.584.694 ton yang merupakan urutan pertama diantara produksi buah-buahan di Indonesia.<sup>[1]</sup> Jenis pisang di Indonesia cukup banyak, salah satunya yaitu Pisang Jantan (*Musa paradisiaca cv. Jantan.*). Pisang jenis ini telah menjadi komoditi utama masyarakat di Indonesia khususnya di Sumatera Barat. Konsumsi Pisang Jantan di Sumatera Barat cukup tinggi.<sup>[2]</sup> Menurut Badan Pusat Statistik (2002) total produksi pisang di Indonesia mencapai 4.384.384 ton. Propinsi Sumatera Barat memproduksi pisang sebesar 46.389 ton dan menduduki urutan ke empat setelah Lampung, Sumatera Selatan dan Sumatera Utara. Produksi pisang di Propinsi ini menurun dari tahun ke tahun. Pada tahun 1998 produksi 80.326 ton, tahun 1999 produksi 81.865 ton, tahun 2000 produksi 59.549 ton, tahun 2001 produksi 48.810 ton dan tahun 2002 produksi 33.367 ton. Penurunan produksi pisang disebabkan oleh gangguan hama dan penyakit (BPS, 2002).<sup>[1]</sup> Salah satunya yaitu penyakit layu *Fusarium*. Penyakit ini berasal dari infeksi jamur *Fusarium oxysporum f.sp cubense*. yang bersifat patogen terhadap tanaman pisang dan dapat menyebabkan kerugian yang cukup besar.<sup>[3]</sup>

Sampai saat ini, pengendalian penyakit layu *Fusarium* pada tanaman pisang belum ditemukan metode yang efektif. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan alternatif untuk menghindari penyebaran penyakit tersebut dengan perbanyak bibit tanaman pisang secara in vitro yang dikenal juga dengan teknik kultur jaringan yang merupakan metoda pembudidayaan jaringan tanaman menjadi tanaman kecil yang mempunyai sifat seperti induknya dalam jumlah yang banyak dan dalam waktu yang relatif singkat. Hal tersebut bertujuan untuk mendapatkan bibit sehat, bermutu dalam jumlah banyak dan cepat.

Selain hal kultur jaringan tersebut, juga dilakukan analisis ketahanan tanaman Pisang Jantan terhadap jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*. Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini dilakukan analisa respon Ketahanan pisang jantan terhadap jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* yaitu dengan menganalisa respon produksi senyawa asam salisilat. Hal ini karena respon ketahanan berkolerasi dengan aktivasi satu set gen-gen inang yang berperan dalam mekanisme gen-gen pertahanan yaitu gen-gen PR-protein.<sup>[4]</sup> Chasan 1995; van Loon 1997 menyatakan bahwa respon ketahanan memerlukan keterlibatan molekul signal asam salisilat. Selain menganalisis respon produksi asam salisilat, aktivitas enzim phenilalanine ammonia lyase (PAL) juga dianalisis sebagai enzim pertahanan pisang terhadap patogen dianalisa aktivitas enzimnya.

## 1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang yang ada, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

- 1) bagaimana hasil kultur jaringan pisang jantan yang nantinya dapat dilakukan analisa lanjutan dengan inokulasi dengan jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*?
- 2) bagaimana kecepatan respon ketahanan dari kultur pisang jantan terhadap infeksi jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* dengan variasi lama inokulasi yaitu 12, 24, 36, dan 48 jam?
- 3) apakah infeksi jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* pada kultur pisang jantan dengan variasi lama inokulasi dapat menginduksi peningkatan biosintesis produksi asam salisilat dan aktivitas enzim phenilalanine ammonia-lyase (PAL)?
- 4) bagaimana kondisi respon optimum produksi asam salisilat dan aktivitas optimum enzim phenilalanine ammonia-lyase (PAL) pada perlakuan terhadap kultur pisang jantan?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui kondisi pertumbuhan kultur pisang jantan sebelum dilakukannya tahapan infeksi jamur *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense*.
2. Mengetahui respon produksi senyawa asam salisilat dari hasil interaksi antara planlet pisang jantan dan jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* dengan variasi lama inokulasi 12, 24, 36, 48 jam.
3. Mengetahui aktivitas enzim phenilalanine ammonia-lyase (PAL) hasil perlakuan inokulasi jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* pada sampel kultur pisang jantan dengan variasi lama inokulasi 12, 24, 36, 48 jam serta menganalisa kadar proteinnya.
4. Mengetahui kecepatan respon pertahanan (kerentanan) dari pisang jantan terhadap infeksi jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*

### 1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan tujuan penelitian, maka manfaat dari penelitian ini yaitu dapat mengetahui senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan melalui proses kultur tanaman Pisang Jantan dan dapat dimanfaatkan untuk senyawa anti penyakit layu *Fusarium* pada tanaman Pisang Jantan sehingga dapat menunjang proses produksi tanaman Pisang Jantan di Indonesia, khususnya Sumatera Barat.



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kultur Jaringan

Kultur jaringan berasal dari bahasa asing yaitu *tissue culture*. Kultur adalah budidaya dan jaringan adalah sekelompok sel yang mempunyai bentuk dan fungsi yang sama. Maka, kultur jaringan berarti membudidayakan suatu jaringan tanaman menjadi tanaman kecil yang mempunyai sifat seperti induknya.

Perbanyakan tanaman dapat digolongkan menjadi dua yaitu secara generative dan vegetative. Perbanyakan secara generative adalah dengan menanam biji sedangkan secara vegetative dapat dilakukan dengan cara stek, okulasi, cangkok, penyambungan, merunduk, dan yang paling mutakhir yaitu kultur jaringan.

Kultur jaringan termasuk salah satu teknologi perbanyakan tanaman secara vegetatif atau pembelahan biji. Metoda vegetatif digunakan karena sifatnya yang efisien dan efektif untuk menumbuhkan dan memperbanyak suatu jenis tanaman.<sup>[5]</sup> Salah satu keuntungan dari kultur jaringan yaitu didapaknya tanaman yang mirip sifat induknya. Oleh sebab itu, pada kultur jaringan induk yang dipilih seharusnya yang berkualitas baik.<sup>[5]</sup> Selain diperolehnya tanaman baru yang sifatnya mirip dengan induknya, kultur jaringan juga memiliki keuntungan terhadap waktu, dimana proses penggunaan kultur jaringan terhadap tanaman relatif lebih singkat dibandingkan dengan metoda konvensional.

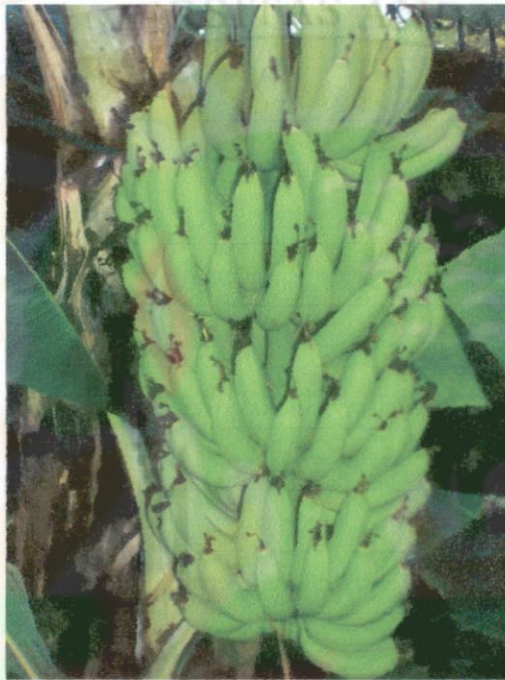
Teknik kultur jaringan sebenarnya sangat sederhana, yaitu suatu sel atau irisan jaringan tanaman yang disebut eksplan secara aseptik diletakkan dan dipelihara dalam medium padat atau cair yang cocok dan dalam keadaan steril.

Pada penelitian ini yang dikultur yaitu jaringan meristem pada tanaman Pisang Jantan. Jaringan meristem yaitu jaringan muda, jaringan yang terdiri dari sel-sel yang membelah dan dindingnya masih tipis.<sup>[5]</sup> Karena jaringan ini selalu membelah maka cocok digunakan untuk kultur jaringan karena diduga memiliki hormon pertumbuhan.

[5]

## 2.2 Pisang Jantan (*Musa paradisiaca* cv. *Jantan*)

Buah pisang merupakan salah satu penghasil energi yang cukup besar, selain juga banyak mengandung zat gizi penting lainnya. Ashari (1995) menyatakan bahwa dalam setiap 100 g buah pisang segar terdapat 275-467 kJ energi, 1,2 protein, 0,3 g lemak, 27 g pati, 0,5 g serat dan 400 mg potasium. Salah satunya adalah pisang Jantan.



**Gambar 1.** Pisang Jantan

Secara umum, pisang Jantan memiliki ketinggian batang rata-rata 3,2 m dengan diameter batang 17,0 cm. Rata-rata panjang daun adalah 2,8 m dengan lebar 76,5 cm. Panjang buah rata-rata adalah 13,8 cm, dengan diameter 3,4 cm. Tanaman yang tumbuh di daerah dataran rendah (100-500 m dpl) ternyata cenderung memiliki postur yang lebih baik, terutama dilihat dari tinggi dan diameter batangnya. Setiap batang pisang jantan menghasilkan rata-rata 8,6 sisir buah setiap tandan, dengan rata-rata 14,9 buah per sisirnya dan bobot buah rata-rata 131,4 g per buah.

Dengan kerapatan 2500 tanaman per hektar (Samson. 1986). Maka potensi hasil untuk pisang jantan pada setiap rentang ketinggian tempat yang diamati dapat



dihitung sebagai berikut. Potensi hasil tertinggi ditemui pada tanaman pisang jantan yang terdapat di ketinggian 100-500 m dpl, yaitu sebesar 46,7 ton/hektar. Berturut-turut diikuti oleh tanaman pada ketinggian 500-1000 m dpl (44,7 ton/ha), >1000 m dpl (42,1 ton/ha) dan <100 m dpl (32,9 ton/ha).

Hasil pengamatan terhadap ciri morfologi batang, daun dan jantung tanaman pisang jantan menurut Simmonds (1966) di sajikan pada table 1.

**Tabel 1.** Data morfologi tanaman pisang Jantan

Pengamatan	Keterangan
Warna batang	Pink, dengan bercak coklat atau hitam
Rongga tangkai daun	Ujung tegak dan bersayap
Ovul	Terdiri dari 2 lajur tak beraturan
Putik	Bergelombang di ujung dan berwarna kuning
Benang sari	Berwarna krim
Bahu kelopak jantung	posisinya rendah
Kelopak jantung	Bulat melebar
Ujung kelopak jantung	Tumpul
Warna dalam kelopak jantung	Ungu kecoklatan
pemudaran warna kelopak jantung	Memudar ke arah dasar kelopak
Tempat melekat pada batang	jelas kelihatan
Warna kulit buah	Hijau
Tangkai buah	Pendek
Tangkai tandan	Berbulu

Morfologi tanaman pisang merupakan sifat genetis yang dimiliki oleh setiap jenis pisang. Faktor lingkungan, termasuk ketinggian tempat, lebih mempengaruhi ukuran fisik tanaman pisang dibandingkan pengaruhnya terhadap ciri morfologinya. Data morfologi ini dimaksudkan sebagai alat pengenalan bagi tanaman pisang jantan, yang dapat membedakannya dari jenis *Musa* yang lain. Dilihat dari posisi jantungnya yang menggantung di batang, kelopak daun terbuka, ujung jantung tumpul, bentuk ovul intermediet, maka dapat disimpulkan bahwa pisang jantan termasuk *Eumusa* dari kelompok *Musa* (AAB).<sup>[6]</sup>



### 2.3 Jamur *Fusarium oxysporum f.sp cubense*

Berikut ini merupakan klasifikasi taksonomi dari jamur *Fusarium oxysporum f.sp Cubense* :

Kingdom	: <i>Fungi</i>
Phylum	: <i>Ascomycota</i>
Class	: <i>Sordariomycetes</i>
Subclass	: <i>Hypocreomycetidae</i>
Ordo	: <i>Hypocreales</i>
Famili	: <i>Hypocreaceae</i>
Genus	: <i>Fusarium</i>
Spesies	: <i>Fusarium oxysporum f.sp. cubense</i>

Summerel tahun 2003 telah berhasil mengidentifikasi jamur *Fusarium*. Tahap awal adalah mengamati morfologi koloni dengan parameter kecepatan perkembangan dan keberadaan chlamydospore serta makro dan mikro konidia. Bentuk macroconidia dari jamur *Fusarium* adalah sangat spesifik, berbentuk bulat panjang dan meruncing pada kedua ujungnya, atau seperti bulan sabit. Sementara microconidia agak bervariasi dengan bentuk oval, pyriform, clavate, fusiform, napiform, dan globose.<sup>[7]</sup>

Jamur *Fusarium* juga dikenal sebagai penyebab utama penyakit layu *Fusarium* pada tanaman pisang. Penyakit layu *Fusarium* juga dikenal dengan *Panama disease*, karena pertama kali ditemukan di negara Panama. Penyakit ini dapat menyebabkan kerugian yang sangat besar bagi perekonomian. Gejala penyakit ini pada tanaman pisang dapat dilihat dari daun yang menguning dan menjadi layu, tangkai daun patah dan batang membusuk. Pada batang terlihat titik-titik berwarna merah, dan pada buah terjadi pembusukan. Gejala penyakit *Fusarium* terdapat pada (gambar 2).<sup>[8]</sup>



**Gambar 2.** Gejala penyakit Fusarium

- a. Serangan penyakit layu Fusarium pada tanaman pisang
- b. Serangan penyakit layu Fusarium pada batang
- c. Serangan penyakit layu Fusarium pada buah



Menurut herlina (2009), pada penelitiannya, penyakit layu Fusarium pada tanaman tomat diawali dengan gejala terangnya pembuluh angkut pada permukaan terluar helaian daun dan gugurnya tangkai daun, kemudian bagian dalam daun berubah menjadi kuning dan mati. Hal ini mungkin juga terjadi pada tanaman yang masih muda. Gejala serangan jamur patogen dapat dilihat dengan terjadinya pembusukan jaringan pembuluh angkut sehingga tampak kecoklatan, daun menguning dan akhirnya tanaman mati.<sup>[9]</sup>

Jamur *Foc* menyerang berbagai fase pertumbuhan pisang, mulai dari planlet, anakan sampai tanaman dewasa. Menurut Ploetz, (1990), penyakit layu Fusarium tersebar di semua Negara produsen pisang dunia seperti di Amerika Selatan, Asia, Afrika, dan Australia. Informasi tentang karakter dan sebaran patogen *Foc* di Indonesia belum pernah dilaporkan secara rinci. Hal ini merupakan salah satu penghambat usaha menekan luas serangan penyakit layu panama di Indonesia.

Sejauh ini ditemukan empat ras *Foc* menurut Stover & Buddenhagen (1986). Ras 1 patogenik terhadap pisang bergenom AAA, AAB, dan AAAA, ras 2 menyerang pisang dengan genom ABB dan AAAA, dan ras 3 hanya patogen terhadap tanaman hias *Heliconia caribea*. Berbeda dengan ras 1 dan 2 yang hanya menyerang genom pisang tertentu, ras 4 adalah ras paling ganas dan menyerang semua jenis pisang yang juga diserang oleh ras 1 dan 2. *Foc* ras 4 yang juga dikenal sebagai ras tropis, pertama kali dilaporkan pada tahun 1968 ketika ras ini menyerang pisang resisten kavendis di Taiwan.

Menurut Moore (1991). Ras 4 dapat diidentifikasi dengan menggunakan metoda *volatile odour test* (VOT). Menurut Stover (1962). Biakan murni patogen yang ditanam dalam media beras, akan menghasilkan aroma aldehid, mencirikan isolate yang di uji adalah *Foc* ras 4. Keganasan ras ini dan distribusinya di Indonesia sangat perlu untuk di kaji. Hal ini sangat penting dalam mendukung program diversifikasi pangan yang menjadikan pisang sebagai salah satu sumber pangan alternatif yang bergizi, berkelanjutan, dan bernilai ekonomis tinggi.<sup>[10]</sup>

Pada penelitian ini yang digunakan adalah ras *Foc* 4 karena memberikan dampak yang signifikan pada jaringan tanaman pisang. Selain itu, penggunaan ras



*Foc 4* juga memberikan respon pertahanan yang lebih kuat pada tanaman pisang. Sebelum diinfeksi pada tanaman pisang jamur *Foc* dibiakkan terlebih dahulu ke dalam suatu media pertumbuhan.

Media yang digunakan untuk pembiakkan jamur *Fusarium* yaitu media *potato dextrose agar* (PDA). Koloni *Fusarium* berbentuk benang wol dengan miselium berwarna krem atau putih. Setelah tumbuh dan berkembang dilakukan proses suspensi terhadap jamur *Foc*. Hasil suspensi inilah yang akan diinfeksi kepada tanaman pisang.

#### **2.4 Mekanisme Pertahanan Pisang Jantan Terhadap Infeksi *Fusarium* Berupa Systemic Acquired Resistance (SAR)**

Tanaman yang diinfeksi oleh patogen akan memberikan respon pertahanan terhadap serangan tersebut. Salah satunya *systemic acquired resistance* (SAR). SAR merupakan mekanisme pertahanan yang terinduksi yang berfungsi sebagai perlindungan terhadap keberadaan mikroorganisme. Beberapa tanaman memiliki mekanisme pertahanan terhadap serangan *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. Kontak terhadap patogen sering memicu reaksi pertahanan yang terlokalisasi, yang disebut *hypersensitive reaction* (HR). HR merupakan mekanisme pertahanan yang cepat dan ditandai dengan matinya sel pada area infeksi.<sup>[11]</sup>

Kurangnya sinyal HR untuk mengidentifikasi patogen menyebabkan terjadinya infeksi pada tanaman. Untuk mengatasi terjadinya infeksi lanjutan, tanaman memberikan mekanisme pertahanan sekunder yang dikenal dengan nama SAR. Induksi SAR membutuhkan sinyal dari molekul asam salisilat yang terakumulasi pada tanaman selama aktivasi SAR.<sup>[12]</sup>

Mekanisme pertahanan SAR ini kemungkinan juga terjadi apabila pisang jantan diinfeksi oleh jamur *Fusarium*. Respon yang diberikan biasanya berupa akumulasi asam salisilat sebagai bentuk respon awal pertahanan pisang jantan. Kemunculan asam salisilat ini terjadi karena proses biosintesis pada jaringan tanaman, salah satunya reaksi enzimatis *phenylalanine ammonia-lyase* (PAL). Reaksi enzimatis PAL ini akan menghasilkan aktivitas enzim PAL yang merupakan salah

satu enzim ketahanan patogen pada pisang jantan. Aktivitas enzim PAL ini juga diduga sebagai respon awal pertahanan pisang jantan.

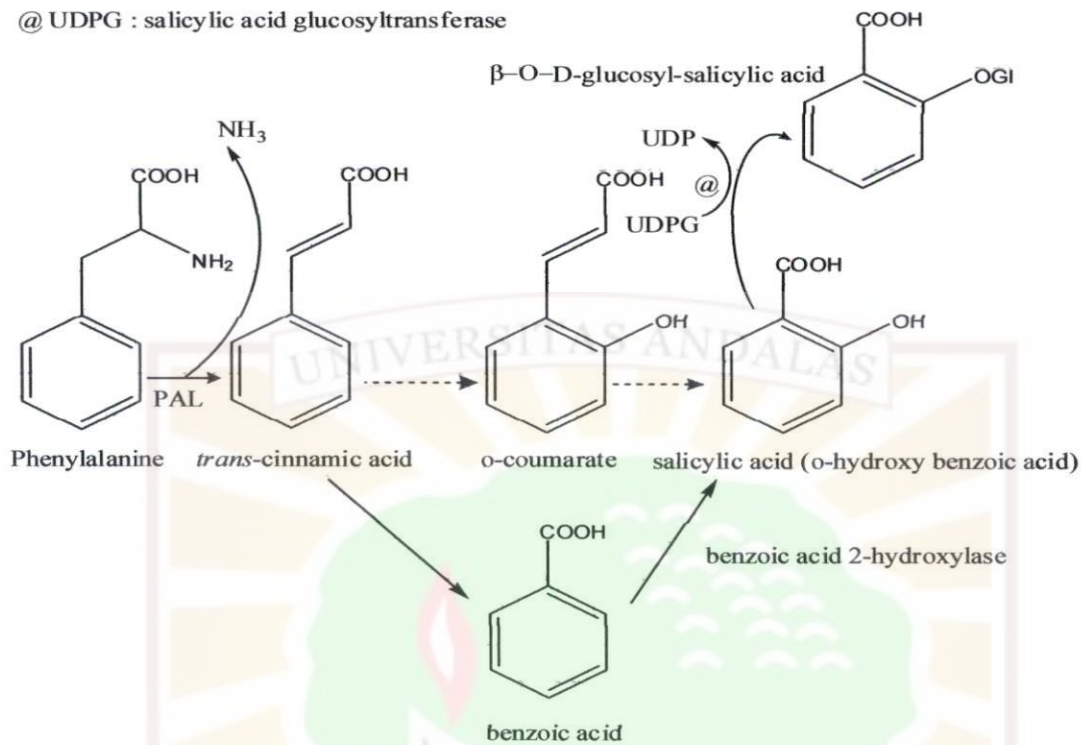
Menurut Hersanti pada penelitiannya terhadap ketahanan tanaman cabai yang diinfeksi oleh patogen, asam salisilat (AS) memegang peran penting dalam SAR. Asam salisilat terbentuk pada tanaman sebagai reaksi terhadap infeksi patogen. Beberapa produk dari gen KST mempunyai sifat antimikrobia atau dapat dimasukkan ke dalam kelas protein anti mikrobia. Protein itu antara lain berupa b, 1-3, Glukanase, kitinase, thaumatin, dan protein PR-1.<sup>[13]</sup>

## **2.5 Peranan Enzim Phenilalanine Ammonia-Lyase (PAL) Sebagai Enzim Pertahanan Terhadap Infeksi Jamur *Fusarium oxysporum f.sp cubence* (FOC).**

Enzim phenilalanine amonia-lyase (PAL) merupakan salah satu enzim ketahanan yang terdapat pada tanaman. Enzim ketahanan pada tumbuhan teraktifasi ketika terjadi gangguan dari luar jaringan tanaman, biasanya berupa infeksi patogen. Gangguan ini mengaktifkan sinyal pada jaringan tumbuhan untuk memproduksi enzim ketahanan, salah satunya enzim PAL.<sup>[14]</sup>

Reaksi enzimatik PAL akan terjadi apabila bereaksi dengan substratnya, yaitu L-phenylalanine. Proses reaksi enzimatik PAL dapat dilihat pada (gambar 3). Reaksi enzim PAL dengan L-phenylalanine menghasilkan senyawa intermediet asam trans sinamat dan asam benzoate. Dengan bantuan enzim asam benzoate 2-hidroksilase senyawa-senyawa intermediet tersebut dapat diubah menjadi asam salisilat.





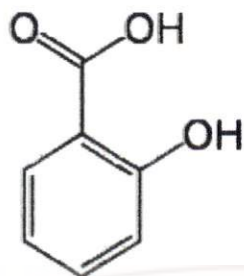
**Gambar 3.** Mekanisme korelasi enzim PAL dan Asam Salisilat pada Jalur Shikimat

Aktivasi enzim PAL akibat infeksi patogen merupakan salah satu bentuk aktivasi enzim-enzim ketahanan. Enzim-enzim ketahanan lain yang teraktifasi akibat infeksi patogen yaitu Peroksidase (PO), polyphenol oxydase (PPO). Aktivasi enzim-enzim ini biasanya saling bertolak belakang. Apabila aktivitas salah satu enzim besar, maka aktivitas enzim lainnya akan rendah.<sup>[14]</sup>

## 2.6 Produksi Asam Salisilat Sebagai Indikator Infeksi Jamur *Fusarium oxysporum f.sp cubence* Terhadap Kultur Pisang Jantan

Asam salisilat merupakan turunan senyawa fenolik. Senyawa ini disebut juga 2-hidroksibenzenkarboksilat. Asam salisilat memiliki gugus hidroksi pada posisi orto dengan gugus karboksilat (gambar 4). Asam salisilat pada tanaman pisang jantan dapat diinduksi dengan infeksi patogen.





**gambar 4.** Asam Salisilat

Infeksi patogen pada tanaman pisang jantan akan menginduksi produksi asam salisilat pada jaringan tanaman. Induksi produksi asam salisilat berkaitan dengan respon SAR pada tanaman yang diinduksi. Asam salisilat dihasilkan melalui reaksi biosintesis pada jaringan tanaman yang diinduksi. Reaksi biosintesis asam salisilat melibatkan reaksi enzimatis PAL dengan substratnya.

Menurut Xinian Dong (1998), pada penelitiannya tentang senyawa asam salisilat, asam jasmonat dan etilen sebagai resisten penyakit pada tanaman, menyatakan bahwa pada beberapa tanaman seperti tembakau, mentimun dan *Arabidopsis*, asam salisilat tidak hanya penting, tetapi juga cocok dengan induksi SAR yang terjadi akibat infeksi patogen.<sup>[12]</sup> Oleh karena itu produksi asam salisilat merupakan salah satu indikasi yang penting pada sistem pertahanan tanaman terhadap infeksi patogen.

Martanto, Eko Agus pada penelitiannya tentang peranan asam salisilat terhadap infeksi pathogen pada ubi jalar, bahwa asam salisilat mempengaruhi ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen karena asam salisilat memberikan sinyal respon yang lebih cepat terhadap serangan patogen serta mampu menghambat perkembangan konidium patogen.<sup>[15]</sup>

Asam salisilat merupakan senyawa fenolik yang memiliki sifat anti mikroba. Senyawa ini juga memerlukan enzim untuk mengaktifasi karakter ketahannya.<sup>[10]</sup> Senyawa fenolik memiliki peranan penting dalam perlindungan tanaman terhadap patogen. Analisa produksi asam salisilat diperlukan untuk mengetahui respon kultur pisang jantan terhadap infeksi patogen. Analisis produksi asam salisilat dibutuhkan

untuk mengetahui respon awal pertahanan pisang jantan terhadap infeksi jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* dengan menganalisa kecepatan produksi asam salisilat akibat infeksi jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*.



## BAB III METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan April 2010 sampai dengan Agustus 2011 di Laboratorium Kultur Jaringan Pisang Parak Kopi Padang dan Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Andalas Padang.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *laminar air flow cabinet* (LAFC), *autoclave*, *high pressure liquid chromatography* (HPLC) Shimadzu: fasa terbalik kolom C-18, detektor UV, dan Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu-1700 Pharma.

#### 3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini, yaitu sampel tanaman pisang (Bonggol Pisang berasal dari Rumah Kaca Parak Kopi Padang), isolat Jamur *Fusarium oxysporum* asal Peureulak, Aceh Timur NAD varietas Barangan, VCG: 01213/16, tanggal korsen: 8/2008 yang diinokulasi di Balai Penelitian dan Budi Daya Tanaman (BALITBU) Solok, Sumatera Barat, bahan-bahan kimia pembuatan medium MS (lampiran II), bahan kimia inisiasi dan subkultur pisang: aquabides steril, fungisida (antracol), larutan pemutih (byclin), dan sabun antibakteri, metanol destilat, 150 mM buffer tris HCl, pH 8.5 Sigma Prod. No. T-1503 (lampiran VII), coumassine brilliant blue (CBBG), H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85 %, etanol 95%, metanol HPLC, asam asetat p.a, aquabidest dan asam salisilat murni.



### **3.3 Prosedur Penelitian**

#### **3.3.1 Persiapan Materi Penelitian**

Penelitian ini menggunakan tanaman pisang jantan hasil kultur jaringan yang dilakukan di laboratorium Kultur Jaringan Pisang Parak Kopi Padang. Sampel yang diambil berupa bonggol pisang dengan ukuran panjangnya  $\pm 10$  cm. Bonggol ini digunakan sebagai bahan tanam (eksplan) kultur jaringan dengan cara mengambil jaringan meristemnya dengan ukuran  $\pm 0,5$  cm.

#### **3.3.2 Sterilisasi Bahan dan Alat**

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian disterilisasi menurut cara yang sesuai. Alat gelas seperti cawan petri, botol kultur, dan media disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dengan tekanan 15 psi selama 30 menit. *laminar air flow* (LAF) media kerja aseptik dibersihkan dengan etanol 70%.

#### **3.3.3 Pembuatan Media MS**

Medium dibuat dengan cara memasukkan masing-masing larutan stok yang telah dibuat (lampiran II). Zat-zat dicampur sesuai takaran ke dalam labu 1 L. Kondisi pH media diatur menjadi 5,8 - 6,0 dengan menggunakan pH-meter atau kertas pH. Jika nilai pH lebih tinggi, medium ditetesi dengan HCl 3 N sedangkan jika lebih rendah ditetesi dengan NaOH 1 N. Media ditambahkan pematat atau agar. Setelah itu, media dimasak sampai mendidih. Selanjutnya media dimasukkan ke dalam botol kultur dan ditutup dengan plastik lalu disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$ , tekanan 15 psi selama 20 menit.

#### **3.3.4 Sterilisasi Eksplan Pisang Jantan**

Sterilisasi eksternal dan internal dilakukan terhadap eksplan agar menghilangkan kontaminasi diluar dan di dalam jaringan eksplan. Eksplan pisang berupa bonggol dikupas beberapa lapis dan dicuci dengan air. Setelah dibersihkan, eksplan dibawa ke dalam laminar dan direndam dalam air steril dengan penambahan sabun antibakteri selama 30 menit. Perendaman selanjutnya menggunakan larutan fungisida (antracol)

selama 25 menit dan dibilas dengan air steril 1 kali. Kemudian eksplan direndam dengan larutan pemutih 30% selama 20 menit dan dibilas dengan air steril 1 kali. Eksplan ini dikupas satu lapis dalam petridis, dan direndam kembali dengan larutan pemutih (byclin) 20% selama 15 menit, selanjutnya dibilas dengan air steril 1 kali. Sterilisasi dengan perendaman pemutih ini dilanjutkan dengan konsentrasi 10% selama 10 menit. Tahap akhir sterilisasi dalam proses inisiasi ini, dimana eksplan dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali.

Eksplan yang telah disterilisasi ini kemudian dibelah menjadi dua di dalam petridis. Belahan tepat dilakukan pada bagian tengah dari eksplan yang merupakan titik tumbuh dari tanaman pisang. Belahan eksplan tersebut ditanam dalam botol kultur yang telah berisi  $\pm$  20 ml media Murashige and Skoog (MS) steril dengan pH 5,8. Eksplan pisang dipelihara dalam ruangan kultur dengan suhu 18 °C dan penyinaran 12-20 jam per hari selama  $\pm$  6 minggu

### **3.3.5 Persiapan Jamur**

Konidia Jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* dibiakkan dan diremajakan di media potato dextrose agar (PDA) sampai terbentuk konidia. Konidia jamur yang telah dibiakkan kemudian disuspensikan ke dalam 400 mL aquibidest steril dengan melepaskan hifa-hifa yang tumbuh pada media potato dextrose agar (PDA) dengan kuas dan kemudian dihitung konsentrasinya sebagai perisapan untuk proses inokulasi.

### **3.3.6 Inokulasi Jamur**

Planlet yang sudah memiliki akar dan umur yang cukup (3-5 bulan) diinokulasikan dengan jamur *Fusarium oxysporum*. Konsentrasi jamur yang didapatkan yaitu  $2.45 \times 10^6$  cfu/mL setelah dihitung dengan menggunakan peralatan Haemocytometer (lampiran I). Proses inokulasi dilakukan dengan cara menyuntikan jamur yang telah disuspensikan kepada bagian bonggol tanaman kultur pisang. Pengamatan dan perlakuan dilakukan terhadap variasi waktu 0 (standar), 12 jam, 24 jam, 36 jam, dan 48 jam.



### 3.3.7 Ekstraksi Planlet Untuk Analisis Enzim dan Protein

Protein dari kultur pisang yang sudah diperlakukan dan kontrol diekstrak dengan larutan buffer tris-HCl (20 mL untuk setiap sampel) dimana buffer ditambahkan HCl untuk menyesuaikan pH menjadi 8 (lampiran V). Kemudian filtrat disaring dengan kain kasa steril, dan disentrifuge. Filtrat hasil *sentrifuge* ditampung di dalam tabung reaksi dan disimpan dalam suhu 2° C. Filtrat adalah ekstrak kasar protein dan akan diuji terhadap aktifitas enzim PAL dan kadar protein.

### 3.3.8 Ekstraksi Planlet Untuk Analisis Asam Salisilat

Planlet pisang yang diperlakukan dan kontrol direndam dengan methanol destilat (300 mL) dan disaring. Hasil ekstraksi dengan methanol ditampung dalam sebuah wadah untuk kemudian dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator*. Hasil evaporasi akan diuji terhadap kandungan asam salisilat menggunakan HPLC.

### 3.3.9 Uji Alktivitas Enzim Phenilalanine Ammonia-Lyase (PAL)

Aktivitas enzim PAL ditentukan dengan mengukur produk yang terbentuk sebagai hasil reaksi yang dikatalis oleh enzim PAL. Reaksi dilakukan pada suhu 30°C, pH 8.5, dan produk diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 270 nm. Campuran reaksi terdiri dari 0.1 mL buffer tris HCl 0.15 M (reagen A), 2.0 mL larutan substrat L-Phenylalanine 0.003 M (reagen B). Reaksi dimulai dengan memasukkan 0.1 mL ekstrak kasar protein preparat PAL (Reagen C), dan penambahan 0.9 mL aquabidest didalam sebuah tabung reaksi. Campuran reaksi diinkubasi pada 30°C, pH 8.5, selama 5 menit. Reaksi enzimatik dihentikan dengan penambahan TCA 2N (3 mL), untuk mendenaturasi protein enzim (lampiran V). Hasil reaksi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 270 nm. <sup>[16]</sup>

### 3.3.10 Uji Kadar Protein

Analisis protein dilakukan dengan menggunakan metoda Bradford. Metoda ini dilakukan dengan menambahkan filtrat (enzim PAL) dengan reagen Bradford (0.01 g CBBG didalam 5 mL etanol 96% dan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85 % (10 mL dalam 100 mL).



Campuran reaksi diinkubasi selama 10 menit, kemudian serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 590 nm). Kurva standard dibuat dengan standar protein bovine serum albumin (BSA). Larutan protein standar BSA dibuat dengan variasi konsentrasi 0 s/d 1000 ppm (rentang 200 ppm). Data hasil pengujian standar BSA digunakan untuk mendapatkan persamaan regresi yang akan digunakan untuk menentukan kadar protein pada sampel.

### 3.3.11 Analisis Asam Salisat Dengan HPLC

Ekstrak metanol dari sampel dikeringkan dengan alat *rotary evaporator*, kemudian diukur massanya. Sebelum dianalisa, ekstrak kental sampel dilarutkan dengan campuran metanol dengan air (40:60%) dan asam asetat murni 1.5%, kemudian dianalisa dengan HPLC Shimadzu kolom C-18 dengan metoda gradient dan *flow rate* 1 mL/menit (lampiran VI).<sup>[17]</sup>

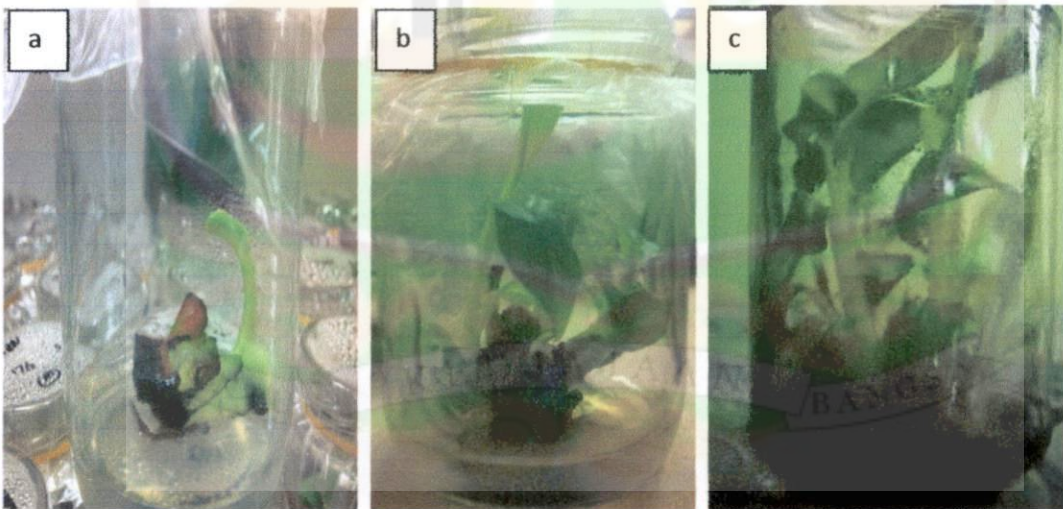
## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Hasil Kultur Jaringan Pisang Jantan

Hasil kultur jaringan berupa planlet dapat dilihat setelah satu bulan inisiasi. Pertumbuhan akar, batang, dan daun dapat dilihat dari pengamatan yang dilakukan pada pertumbuhan planlet setelah dipindahkan ke media pada minggu ke-3; ke-6; ke-9; dan ke-12, serta kontaminasinya.

Eksplan bakal buah setelah dikultur menunjukkan respon perubahan terhadap pertumbuhannya yang sedikit lambat, eksplan pada saat ini diperkirakan mengalami fase adaptasi dengan lingkungan media tanam dan fase pertumbuhan. Eksplan akan tumbuh menjadi planlet kecil dan semakin membesar dengan pertambahan minggu.

Dalam sekali kultur di dapatkan  $\pm 2-4$  anakan/tunas baru. Akar planlet pisang jantan mulai terbentuk setelah planlet berumur  $\pm 3$  bulan, dan terus memanjang seiring pertambahan usia planlet pisang tersebut. Gambar pertumbuhan planlet dapat dilihat pada (gambar 5) dibawah ini :



**Gambar 5.**

- Memperlihatkan planlet kecil mulai terbentuk dengan umur  $\pm 4$  minggu
- Akar, batang, dan daun yang sudah mulai terbentuk umur  $\pm 8$  minggu
- Planlet yang siap untuk dilakukan preparasi penelitian selanjutnya

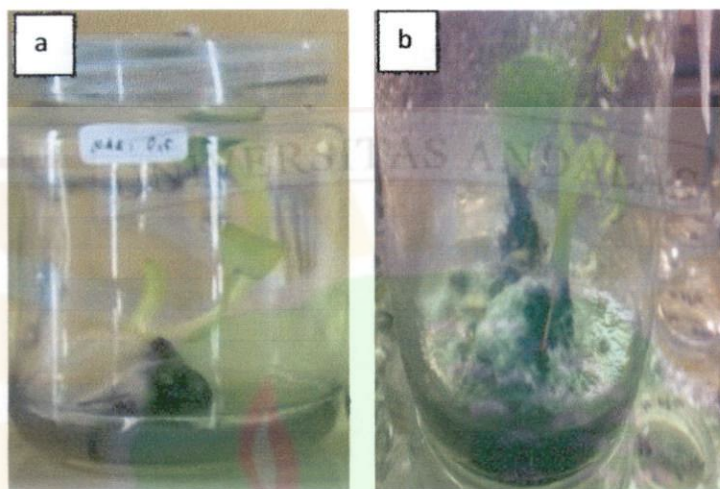
Pertumbuhan planlet sangat bervariasi, pada tahap inisiasi 1 bonggol pisang dibelah menjadi dua pada titik tumbuh yang terletak di tengah bonggol, dikarenakan pisang jantan merupakan pisang yang mempunyai getah yang cukup banyak jadi disetiap perlakuan kultur sering ditemukan *browning* yang akan mengganggu pertumbuhan planlet. Dalam teknik kultur jaringan produk metabolit sekunder khususnya senyawa fenol menjadikan masalah tersendiri dengan terjadinya reaksi pencoklatan atau *browning* pada eksplan yang mengakibatkan matinya jaringan tersebut. Terjadinya reaksi pencoklatan menurut Winarno (1984) diperkirakan melibatkan perubahan senyawa dalam jaringan dari bentuk kuinol menjadi kuinon melalui oksidasi. Asam kuinon merupakan racun jaringan yang dapat mematikan jaringan eksplan sehingga mengakibatkan tujuan suatu kultur tidak tercapai. Menurut Sheeler dan Bianchi (1987), bagian sel tanaman yaitu vacuola sebagai tempat untuk penyimpanan air dan produk-produk sel khususnya metabolit sekunder termasuk fenol. Didalam pemotongan jaringan, vacuola terpotong dan mengeluarkan fenol yang akan bereaksi dengan enzim fenol oksidase didalam sitosol sehingga terbentuk kuinon yang menyebabkan warna coklat dan beracun. Oleh sebab itu didalam media kadang-kadang ditambahkan anti oksidan antara lain vitamin C untuk mengurangi terjadinya oksidasi polyfenol.<sup>[18]</sup>



**Gambar 6.** Media yang mengalami *browning*



pertumbuhan planlet juga sering terhambat dan tidak mendapatkan hasil yang lebih baik dengan terjadinya kontaminasi oleh jamur dan bakteri. Dapat di lihat pada (gambar 7) dibawah ini :



**Gambar 7.** a. kultur yang terkontaminasi oleh bakteri, b. kultur yang terkontaminasi oleh jamur.

Kontaminasi oleh jamur terlihat jelas pada media. Media dan eksplan diselimuti oleh spora berbentuk kapas berwarna putih, sedangkan kontaminasi oleh bakteri terlihat pada media yang membentuk gumpalan-gumpalan seperti pulau-pulau berwarna bening keputihan yang basah, yang mana membuat media terlihat berkabut oleh gumpalan-gumpalan tersebut. Menurut Setiyoko (1995), jamur yang mengkontaminasi media dan eksplan adalah jamur yang biasa ada di laboratorium seperti *Aspergillus* sp, *Monilla* sp dan *Penicillium* sp. Bakteri menurut Setiyoko (1995), yang mungkin berasal dari laboratorium adalah bakteri gram positif. Menurut Purseglove (1981), bakteri yang semispesifik untuk pisang adalah *Pseudomonas solanacearum*.<sup>[19]</sup>

**Tabel 2.** Memperllihatkan Hasil Pertumbuhan Planlet dan Yang Terkontaminasi

tanggal kultur	inisiiasi	kultur	total yang hidup	Browning	Kontaminasi
20 januari 2011	4 bonggol	-	8 planlet	-	-
11 februari 2011	-	5 planlet	9 planlet	1	-
21 maret 2011	-	9 planlet	15 planlet	1	2
05 april 2011	-	4 planlet	9 planlet	-	-

#### 4.2 Hasil Biakan Jamur *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense*

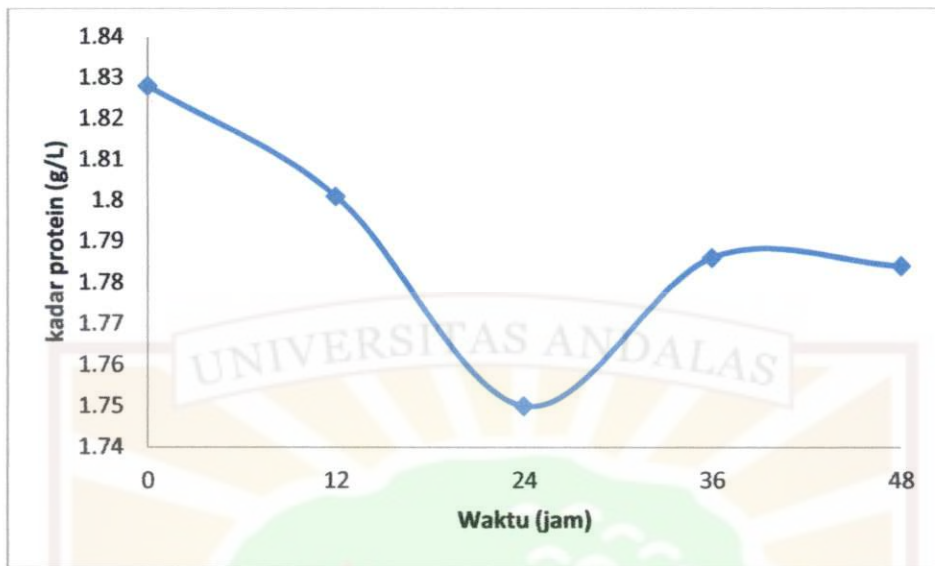
Pengamatan pertumbuhan jamur setelah dibiakkan, dimana jamur berwarna putih keunguan, diameter pertumbuhan jamur dalam 1 minggu  $\pm$  8 cm, hifa tumbuh dan menyebar hingga menutupi semua permukaan dalam petri yang tadinya berisi media PDA.

Jamur yang tumbuh dan berkembang di media PDA, akan disuspensikan untuk infeksi pada pisang jantan. Proses suspensi dilakukan dengan melepaskan hifa-hifa yang terbentuk pada permukaan media.

Hifa yang terbentuk pada permukaan dilepaskan dengan menggunakan sebatang kuas yang berukuran kecil dan disuspensikan untuk menghitung konsentrasi konidia jamur. Konsentrasi konidia dihitung dengan Haemocytometer, dan didapatkan konsentrasinya yaitu  $2,45 \times 10^6$  cfu/mL (lampiran I).

#### 4.3 Efek infeksi Jamur *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense* (FOC) Terhadap Kadar Protein

Kadar protein mengalami penurunan setelah di infeksi jamur Foc hingga 24 jam dan mengalami kenaikan pada 36 jam, kemudian turun lagi pada 48 jam, tetapi kenaikan yang terjadi tidak melebihi control (gambar 8). Hasil ini sebenarnya belum dapat menyimpulkan kadar protein pada pisang jantan secara keseluruhan setelah di infeksi, tetapi terlihat bahwa infeksi jamur *Foc* berdampak pada penurunan kadar protein.



**Gambar 8.** Efek infeksi jamur *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense* (FOC) terhadap kadar protein

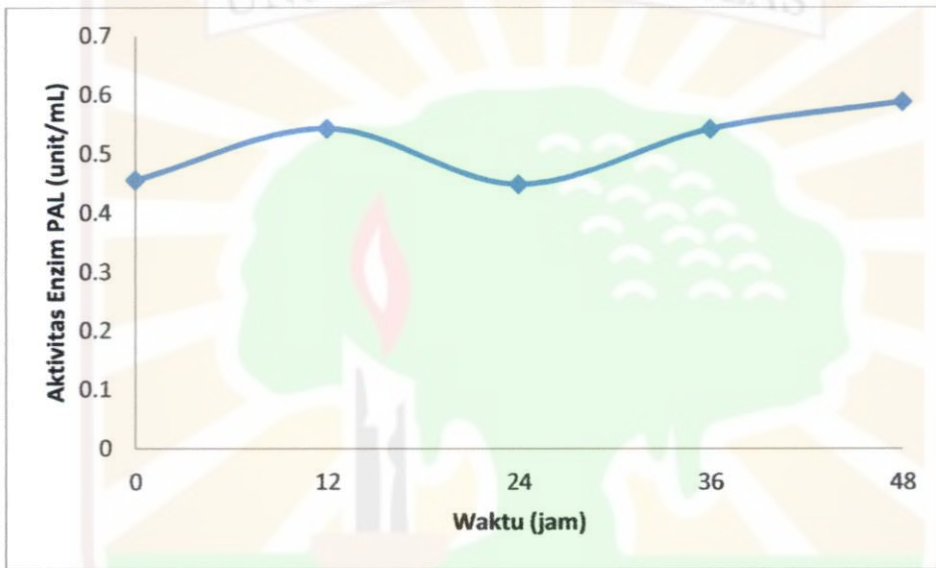
Penurunan kadar protein akibat infeksi *Fusarium* yang patogen terjadi akibat terganggunya metabolisme protein. Berdasarkan penelitian oleh Wasilah, Fitri tentang pengaruh ekstrak rimpang kunyit terhadap pertumbuhan jamur *Fusarium* menyebutkan penurunan kadar protein pada tanaman yang diinfeksi oleh patogen diduga akibat rusaknya struktur dinding sel tanaman oleh infeksi pathogen. Rusaknya dinding sel pada tanaman, akan mengganggu mekanisme kerja yang terdapat di dalam sel. Salah satu mekanisme kerja yang terganggu yaitu metabolisme proteinnya.<sup>[20]</sup>

Selain itu, menurut Suswati (2011), pada penelitiannya tentang infeksi patogen terhadap berbagai jenis pisang, penurunan kadar protein kemungkinan disebabkan oleh peningkatan enzim PPO yang membentuk senyawa o-quinon yang bersifat reaktif dan mampu secara kovalen memodifikasi pelepasan gugus amino dan subhidril dalam protein. Penekanan kadar protein ini juga diduga mempengaruhi metabolisme protein pada pisang jantan yang diinfeksi.<sup>[14]</sup> Perhitungan kadar protein dapat dilihat pada (lampiran III & IV).



#### 4.4 Pengaruh Infeksi Jamur *Fusarium oxysporum* f. sp *cabense* (FOC) Terhadap Aktivitas Enzim Phenilalanine Ammonia-Lyase (PAL)

Aktivitas enzim PAL yang didapatkan seperti yang terlihat pada (gambar 9), mengalami kenaikan setelah 12 jam di infeksi jamur *Foc* dan sempat mengalami penurunan di kontrol pada 24 jam setelah di infeksi. Setelah itu aktivitas enzim PAL terus mengalami kenaikan hingga 48 jam setelah di infeksi.

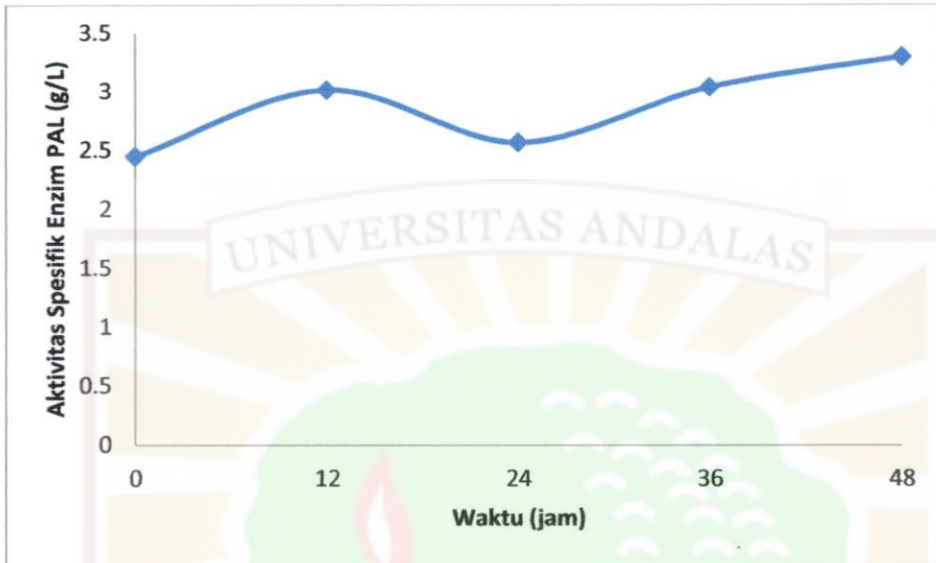


**Gambar 9.** Pengaruh infeksi jamur *Fusarium oxysporum* f. sp *cabense* (FOC) terhadap aktivitas enzim phenilalanine ammonia-lyase (PAL)

Keadaan ini membuktikan bahwa pisang jantan memberikan respon awal setelah di infeksi berupa enzim PAL dengan cepat dan mampu bertahan lama. Hasil ini mengindikasikan pisang jantan memberikan respon awal berupa aktivitas enzim PAL yang tinggi sebagai enzim pertahanannya. Hal ini juga mengindikasikan bahwa pisang jantan mampu bertahan terhadap serangan jamur *Foc*.

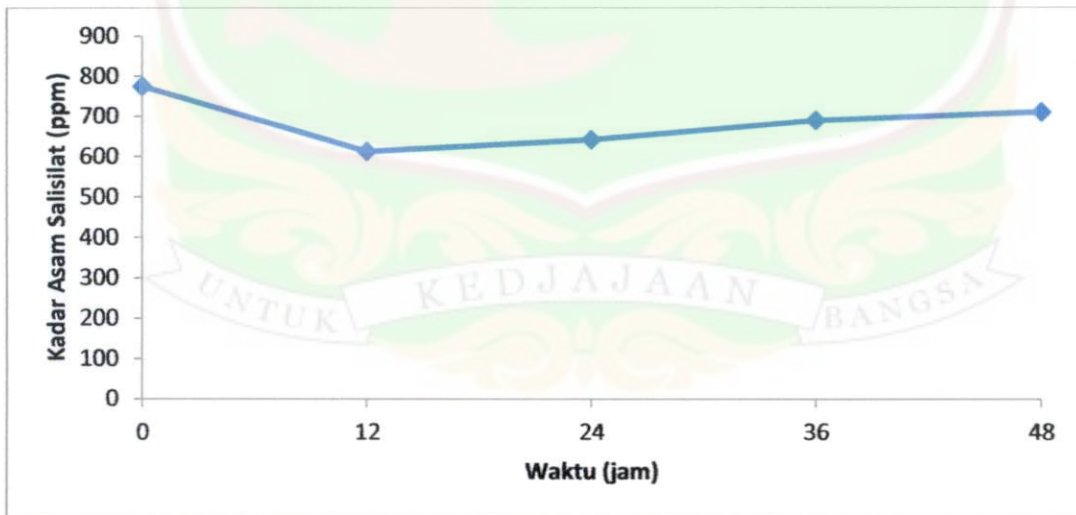
Nilai aktivitas enzim PAL yang didapatkan didukung oleh data hasil aktivitas spesifik enzim PAL yang di hitung dengan membandingkan nilai aktivitas enzim PAL dengan kadar protein yang didapatkan (lampiran V). Nilai aktivitas spesifik

enzim PAL dapat dilihat pada (gambar 10). Hasil ini memiliki kecenderungan atau pola yang sama dengan hasil aktivitas enzim PAL.



Gambar 10. Pengaruh infeksi *Foc* terhadap aktivitas spesifik enzim PAL (Data Lampiran V)

#### 4.5 Pengaruh Infeksi Jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cupense* Terhadap Kandungan Asam Salisilat



Gambar 11. Pengaruh infeksi jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cupense* terhadap kandungan asam salisilat (data pada lampiran VII)

Produksi asam salisilat pada pisang jantan yang di infeksi jamur *Foc* seperti terlihat pada (gambar 11), pada awalnya mengalami penurunan dari kontrol pada 12 jam setelah inokulasi, tapi mengalami kenaikan pada waktu infeksi setelahnya. Penurunan pada awal infeksi terjadi karena terganggunya metabolisme protein dalam memproduksi asam salisilat. Pada kontrol sebenarnya asam salisilat telah terakumulasi. Akan tetapi adanya gangguan berupa infeksi *Fusarium* menyebabkan terganggunya metabolisme protein pada pisang jantan sehingga mempengaruhi produksi asam salisilatnya. Kenaikkan produksi asam salisilat pada waktu infeksi setelah 24 jam di duga terjadi karena pisang jantan memberikan respon sistematis (SAR) yang cukup tinggi sehingga infeksi *Fusarium* yang menyebabkan terganggunya produksi asam salisilat dapat ditekan. Hal ini menyebabkan tidak terhambatnya lagi produksi asam salisilat yang merupakan respon awal terhadap infeksi jamur *Foc*.

Keadaan ini mengindikasikan bahwa pisang jantan memberikan respon awal produksi asam salisilat yang mampu bertahan terhadap infeksi *Fusarium* sehingga dapat disimpulkan bahwa pisang jantan cukup tahan terhadap infeksi jamur *Foc*.



## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian terhadap kultur pisang jantan yang di infeksi oleh jamur *Fusarium oxysporum* f .sp *cubense*, dapat diketahui respon awal pertahanan pisang jantan berupa aktivitas enzim PAL dan asam salisilat. Adapun kesimpulan yang didapatkan yaitu :

1. Kultur pisang jantan memberikan respon pertahanan awal berupa aktivitas enzim PAL yang meningkat.
2. Kultur pisang jantan memberikan respon pertahanan awal berupa produksi asam salisilat yang lambat dan di duga mampu bertahan lama.
3. Pisang jantan bisa memberikan respon pertahanan setelah infeksi. Hal ini diduga menjadi salah satu penjelasan kenapa pisang jantan lebih tahan terhadap infeksi *Fusarium*. Dibandingkan dengan pisang kepok dan buai pada penelitian sebelumnya.

### 5.2 Saran

Setelah mengamati dan menganalisa hasil penelitian, terdapat beberapa hal yang perlu untuk diperhatikan lebih lanjut :

1. Analisis terhadap senyawa metabolit sekunder lain hasil infeksi jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* perlu untuk dilakukan sebagai pembandingan terhadap kandungan asam salisilat
2. Uji bioaktivitas terhadap asam salisilat yang dihasilkan.
3. Perlu dilakukan pembandingan dengan penelitian terhadap jenis pisang yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Kasfar, Fidel. 2006. *Uji Ketahanan Pisang Yang Diimunisasi Dengan Pseudomonas Berflouresensi Terhadap Ralstonia solanacearum*. Biologi UNP.
2. Dinas Tanaman Pangan dan Holtikultura Sumatera Barat. 2008. *Peluang Investasi Komoditas Pisang di Sumatera Barat*. Padang: Deptan Sumbar
3. Salim Widono, Christanti Sumardiyon, Bambang Hadisutrisno. 2000. *Pengimbasan ketahanan Pisang Terhadap Penyakit Layu Fusarium*. Agrosains volume. 5, No.2
4. Eufrocino C. Marfori. 2002. *Trichosetin, a Novel Tetramic Acid Antibiotik Produced in Dual Culture of Trichoderma harzianum and Catharanthus Callus*. Osaka: Osaka University.
5. Hendaryono, Daisy Sriyanti. Wijayani, Ari. 1994. *Teknik Kultur Jaringan: Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman Secara Vegetatif-Modern*. Hal 26-30
6. Mukhtasar. 2002. *Keragaan Fisik dan Morfologi Pisang Jantan di Bengkulu*. Pertanian UNIB. Akta Agrosina Vol. 5. No. 2 hlm 72-75
7. Agusta, A. 2009. *Biologi dan Kimia Jamur Endofit*. Penerbit ITB. Bandung.
8. Suhardiman, P. 1997. *Budi Daya Pisang Cavendish*. Yogyakarta : Kanisius
9. Herlina, Lina. 2009. *Potensi Trichoderma harzianum sebagai Biofungisida pada Tanaman Tomat*. Biosaintifika Vol.1, No.1 Hal 62-69
10. Nasir N, Jumjunidang, F. Eliiesti, dan Y. Meldia. 2003. *Penyakit Layu Panama Pada Pisang: Observasi Ras 4 Fusarium oxysporum f. sp cubence di Jawa Barat*. J. Hort: 13 (4): 269-275
11. Durrant, W.E and Dong,X. 2004. *Systematic Acquired Resistance*. USA : North Carolina University Annual Reviews
12. Dong, Xinian. 1998. *SA, JA, Ethylene, and Disease Resistance on Plants*. Durham : Duke University

13. Hersanti dan Subroto, Toto. *Aktivitas Peroksidase dan Kandungan Asam Salisilat dalam Tanaman Cabai Merah yang Diinduksi Ketahanannya terhadap Cucumber Mosaic Virus Oleh Ekstrak Daun Clerodendrum paniculatum*. Bandung: universitas Padjajaran
14. Suswati. 2011. *Respon Fisiologis Tanaman Pisang Dengan Introduksi Fungi Mikoriza Arbiskular Indigenus Terhadap Penyakit Darah Bakteri*. Padang : Universitas Andalas.
15. Martanto, Eko Agus. 2003. *Peranan Asam Salisilat Pada Interaksi Inang-Patogen Penyakit Kudis Ubi Jalar*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* Vol. 9 No. 2 Hal 92-98
16. Havir , E.A. and Hanson, K.R. 1970. *Method in Enzymology*. USA : Sigma
17. Zellmer, David L, and Williams, Robert. 2000. *HPLC Determination of Phenolic Acid*. USA : Texas A&M University.
18. Sugiri, A. 2005. *Pembentukan Kalus Embrioid Kultur Ovary Pisang Melalui Beberapa Komposisi Media Kultur*. *Pengantar Falsafah Sains*.
19. Nisa, Chatimatun dan Rodinah. 2005. *Kultur Jaringan beberapa Kultivar Buah Pisang (musa paradisiaca l.) dengan pemberian campuran NAA dan kinetin*. Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, KalSel.
20. Wasilah, Fitri, Syulasmi, Ammi, Hamdiyati, Yanti. *Pengaruh Ekstrak Rimpang Kunyit (Curcuma domestica Val) Terhadap Pertumbuhan Jamur Fusarium oxysporum f.sp cubense Schlect Secara In Vitro*



## LAMPIRAN I

### PERHITUNGAN KONSENTRASI *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* DENGAN MENGGUNAKAN HAEMOCYTOMETER

Tabel Data perhitungan koloni jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*

Kotak I	8
Kotak II	10
Kotak III	18
Kotak IV	5
Kotak V	8
<b>Jumlah</b>	<b>49</b>

$$\begin{aligned} a &= b \times 50 \times c \times 10^3 \text{ cfu/mL} \\ &= 49 \times 50 \times 1 \times 10^3 \text{ cfu/mL} \\ &= 2.45 \times 10^6 \text{ cfu/mL} \end{aligned}$$

Keterangan:

a = konsentrasi jamur

b = jumlah koloni jamur

c = jumlah pengenceran

## LAMPIRAN II

### KOMPOSISI MEDIA MS

Tabel Data komposisi media MS

KODE (Larutan Stok)	ZAT KIMIA	LARUTAN STOK (gram)	LARUTAN STOK YANG DIPIPET (mL)
A	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	82 (/100 ml)	20
B	$\text{KNO}_3$	95 (/100 ml)	20
C	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	8,5 (/100 ml)	9,25
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,013 (/100 ml)	0,065
	$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,002 (/100 ml)	0,001
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,115 (/100 ml)	5,5
	$\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1,15 (/100 ml)	0,55
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	18,5 (/100 ml)	9,25
	$\text{H}_3\text{BO}_3$	0,310 (/100 ml)	0,155
	KI	0,092 (/100 ml)	0,021
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,430 (/100 ml)	0,215
D	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,00125 (/100 ml)	0,001
E	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,3975 (/100 ml)	0,348
	$\text{Na}_2$ EDTA	1,8625 (/100 ml)	0,466
	MYOINOSITOL	5 (/100 ml)	1,25
	TIAMIN HCl	0,005 (/100 ml)	0,001
F	NICOTINICACID	0,025 (/100 ml)	0,006
	PRIDOKSIN HCl	0,025 (/100 ml)	0,06
G	GLYCINE	0,10 (/100 ml)	0,025
H	SUKROSA	30	-
I	AGAR	4	-
J	NAA	0,032	-
K	BAP	0,016	-

### LAMPIRAN III

### DATA KALIBRASI STANDAR BOVINE SERUM ALBUMIN (BSA)

Tabel Data kalibrasi standar BSA untuk uji protein

Konsentrasi (X) mg/L	Absorban (Y)	XY	X <sup>2</sup>
0	0.0	0	0
200	0.286	57.4	40000
400	0.510	204	160000
600	0.630	322.8	360000
800	0.903	722.4	640000
1000	1.079	1079	1000000
Σ = 3000	Σ = 3.316	Σ = 2385.4	Σ = 22000000

#### Persamaan Regresi

$$Y = A + BX$$

$$B = \frac{n\sum XY - (\sum X)(\sum Y)}{n\sum X^2 - (\sum X)^2}$$

$$= \frac{6(2385.4) - (3000)(3.316)}{6(2200000) - (9000000)^2}$$

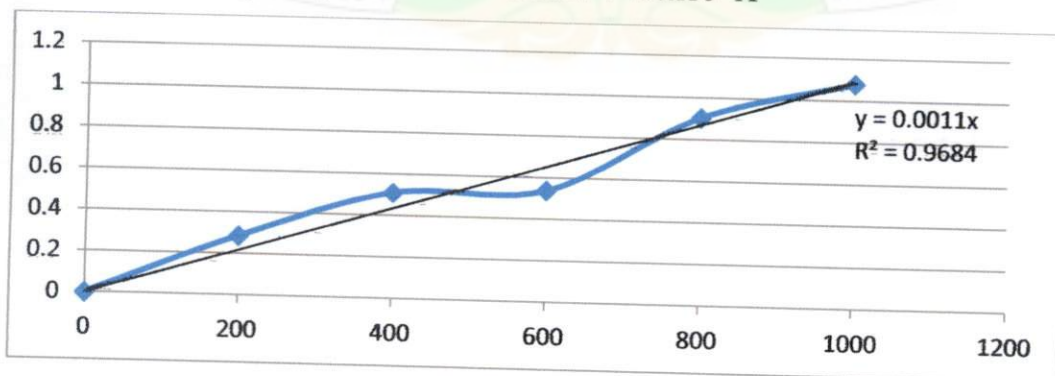
$$= 1,0 \times 10^{-3}$$

$$A = Y - BX$$

$$= 0.5527 - (1.0 \times 10^{-3})(500)$$

$$= 0.0527$$

Jadi persamaan regresinya adalah  $Y = 0.0527 + 1.0 \times 10^{-3}X$



Gambar Kurva Standar Bovine Serume Albumin



## LAMPIRAN IV

### PERHITUNGAN KADAR PROTEIN

Tabel Data nilai kadar protein

Variabel (jam)	A1	A2	A rata-rata	Kadar protein (g/L)
0 Kontrol	1.803	1.959	1.881	1.828
12	1.813	1.896	1.854	1.801
24	1.838	1.768	1.803	1.750
36	1.774	1.904	1.839	1.786
48	1.830	1.845	1.838	1.784

Kadar protein enzim ditentukan dengan metoda Bradford. Kadar protein enzim diperoleh dengan menggunakan kurva kalibrasi standar BSA ,  $y = 0.0527 + 1.0 \times 10^{-3}x$  sebagai berikut :

$y = A + Bx$ ,  $y =$  adsorban dan  $x =$  kadar protein

**a. Kadar protein 0 jam:**

$$1.881 = 0.0527 + 1 \times 10^{-3} x$$

$$x = 1828.3 \text{ mg/L} = 1.828 \text{ g/L}$$

## LAMPIRAN V

### PERHITUNGAN REAGEN UJI ENZIM PAL, AKTIVITAS ENZIM PAL DAN AKTIVITAS SPESIFIK ENZIM PAL

Tabel Reagen-reagen pada reaksi enzimatis PAL dan substrat L-Phenylalanine <sup>[15]</sup>

Reagen	Sampel (mL)	Blanko (mL)
Reagen B (Phenylalanine)	2.0	2.0
Aquabidest	0.9	0.9
Reagen C (Enzim PAL)	0.1	
Reagen A (Buffer Tris-HCl)		0.1
Total Reagen	3.0	3.0

Tabel Data uji aktivitas enzim menggunakan spektrofotometer UV (270 nm)

Variasi Waktu (jam)	Adsorban	Adsorban Rata-Rata
0 (Standar)	0.716	0.751
	0.786	
12	0.793	0.844
	0.895	
24	0.729	0.739
	0.749	
36	0.871	0.891
	0.911	
48	0.995	0.968
	0.940	

Tabel Data nilai aktivitas dan aktivitas spesifik enzim PAL

Waktu Perlakuan (jam)	Aktevitas enzim PAL (u/mL)	Aktivitas spesifik enzim (u/mL)
0 (kontrol)	0.456	2.498
12	0.543	3.015
24	0.499	2.566
36	0.542	3.038
48	0.588	3.298

- **Pembuatan Buffer Tris-HCl (1 M) (reagen A)**

Pembuatan Buffer Tris-HCl 0.15 M, (7.57 g Buffer dalam 50 mL (1M))

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$x \cdot 1 \text{ M} = 0.15 \text{ M} \cdot 50 \text{ mL}$$

$$x = 7.57 \text{ mL}$$

Pembuatan HCl 1 M dari HCl 12 M untuk menurunkan pH buffer

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1 \text{ M} \cdot 50 \text{ mL} = 12 \text{ M} \cdot x$$

$$x = 4.167 \text{ mL HCl 12 M}$$

- **Pembuatan Larutan L-Phenylalanine 3 mM (reagen B)**

Penentuan Massa L-Phenylalanine

$$M = \frac{g}{Mr} \times \frac{1000 \text{ mL}}{100 \text{ mL}}$$

$$0.003 \text{ M} = \frac{x}{165.2 \text{ g/mol}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{100 \text{ mL}}$$

$$x = 0.049 \text{ gram dalam 100 mL}$$

Penentuan Volume L-Phenylalanine

$$M = \frac{\text{mol}}{L} = 0.003 \text{ M} = \frac{0.003 \text{ mol}}{L}$$

Volume = 1 mL (1 mL Reagen B dilarutkan di dalam 25 mL Reagen A)

Perhitungan aktivitas enzim:

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{\left( \frac{\Delta A_{270 \text{ nm sampel}}}{\text{menit reaksi}} - \frac{\Delta A_{270 \text{ nm blanko}}}{\text{menit reaksi}} \right) (6)(df)}{(19.73)(0.1)}$$

Keterangan:

1. 6 = total Volume Reaksi
2. df = Faktor pengenceran (1)
3. 19.73 = Koefisien milimolar dari transsinamat

**a. Aktivitas enzim 0 jam (kontrol)**

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{\frac{0.751}{5} - \frac{0}{5} (6)(1)}{(19.73)(0.1)} = 0.456 \text{ unit/mL}$$



Perhitungan aktivitas spesifik enzim PAL:

$$\text{Aktivitas spesifik enzim} = \frac{\text{aktivitas enzim PAL}}{\text{mg protein}}$$

a. Aktivitas spesifik kontrol

$$\frac{0.456}{1.825} = 0.249 \text{ unit/mg}$$



## LAMPIRAN VI

### PERHITUNGAN VOLUME EKSTRAK METANOL

Tabel Data massa ekstrak metanol kontrol dan sampel

Sampel (jam)	Massa (g)
0 (kontrol)	0.0863
12	0.1177
24	0.1565
36	0.6095
48	6.7094

- a. Konsentrasi kontrol (0 jam):

$$\frac{86.3 \text{ mg}}{0.01 \text{ L}} = 8630 \frac{\text{mg}}{\text{L}} = 8630 \text{ ppm}$$

Volume ekstrak yang diambil:

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$8630 \text{ ppm} \cdot x = 400 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL}$$

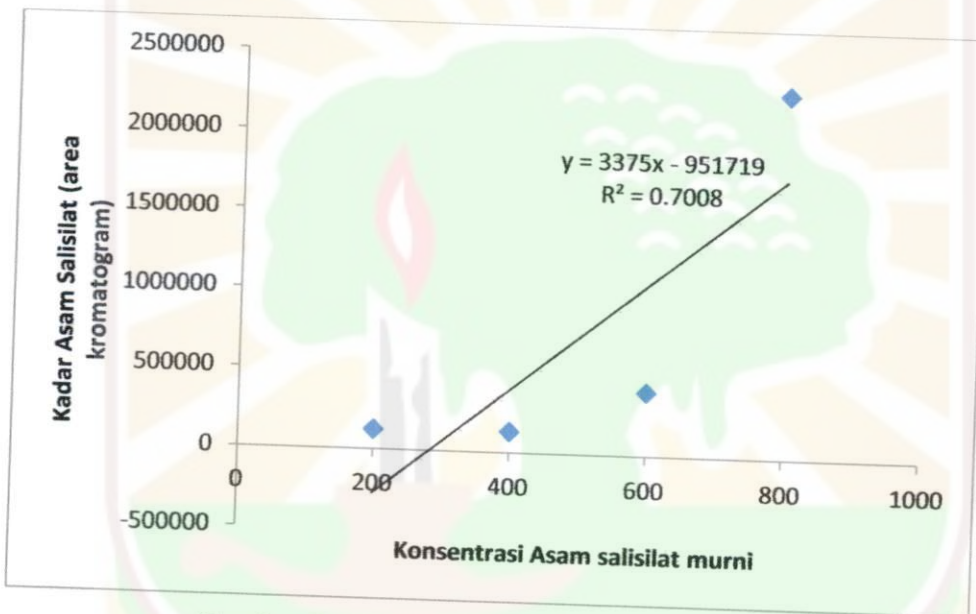
$$x = 0.46 \text{ mL}$$

## LAMPIRAN VII

### DATA HASIL KROMATOGRAM UJI HPLC

Tabel Data konsentrasi dan luas area standar asam salisilat pada uji HPLC

Konsentrasi (ppm)	Luas Area
200	124545
400	132845
600	400447
800	2285373



Gambar Kalibrasi Standar Asam Salisilat Murni

Tabel Luas Area Kromatogram Asam salisilat

Waktu Perlakuan (jam)	Luas Area
0	171415
12	154727
24	157762
36	162648
48	164800



Tabel Konsentrasi Asam Salisilat Per Satuan Waktu

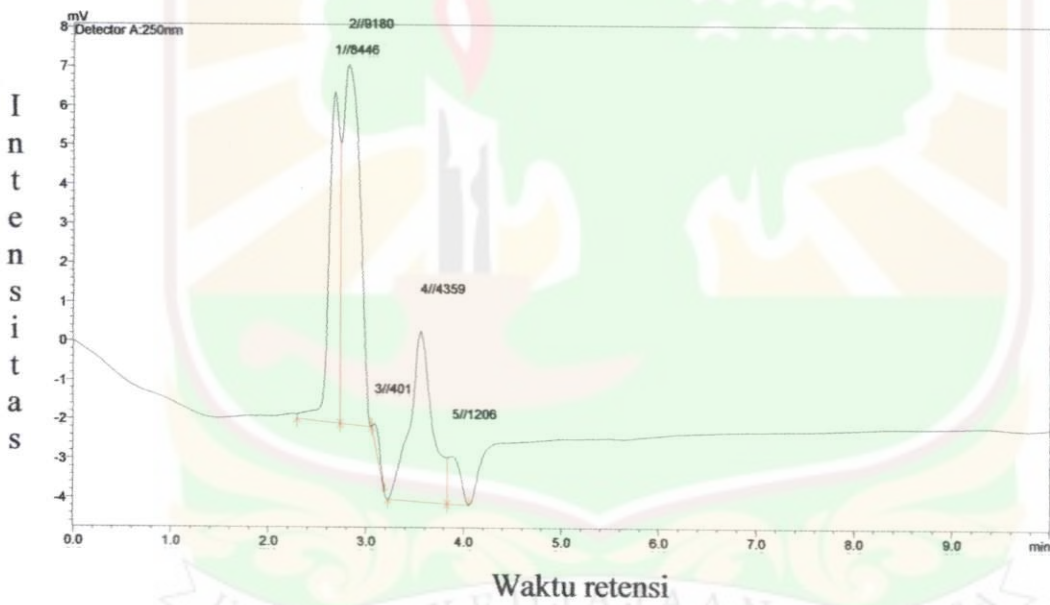
Waktu (jam)	Konsentrasi asam salisilat (ppm)
0	775.3
12	613.23
24	642.71
36	690.15
48	711.05

Persamaan regresi kalibrasi standar:  $y = 102.97x + 91583$

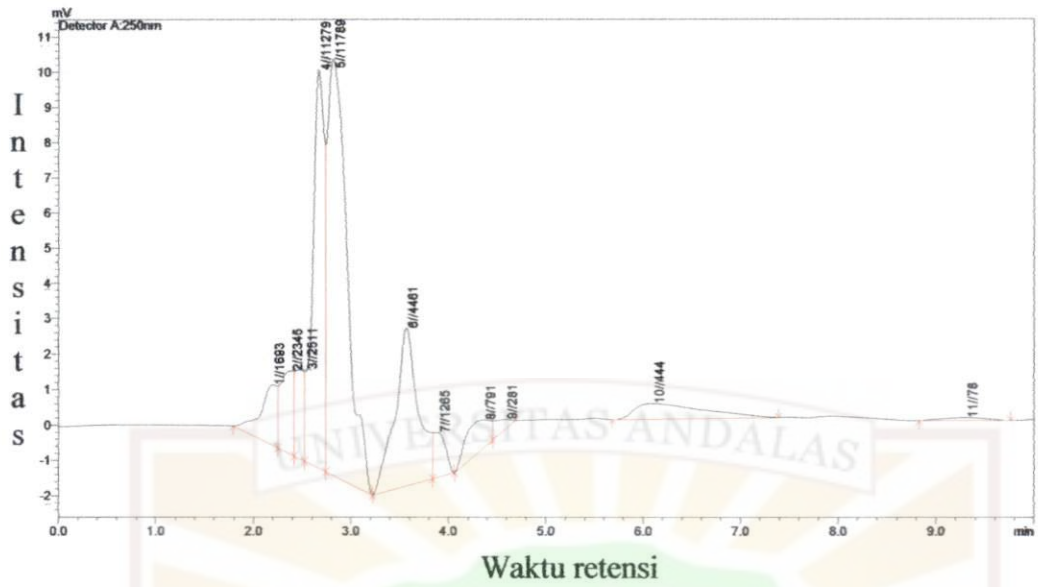
Konsentrasi asam salisilat 0 jam

$$y = 171415$$

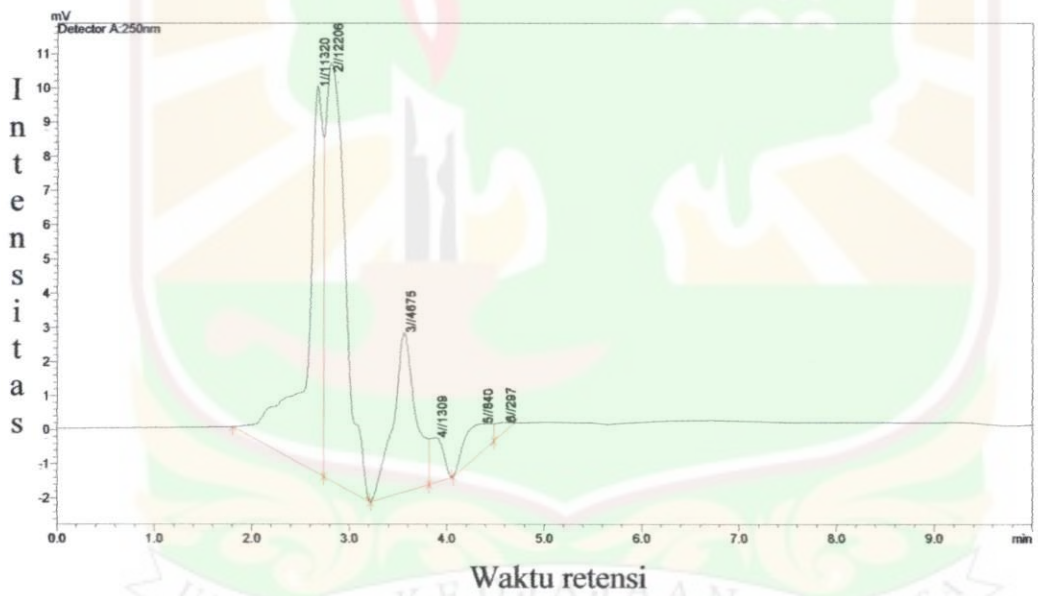
$$x = \frac{171415 - 91583}{102.97} = 775.3 \text{ ppm}$$



Gambar 12. Kromatogram HPLC standar asam salisilat (400 ppm)

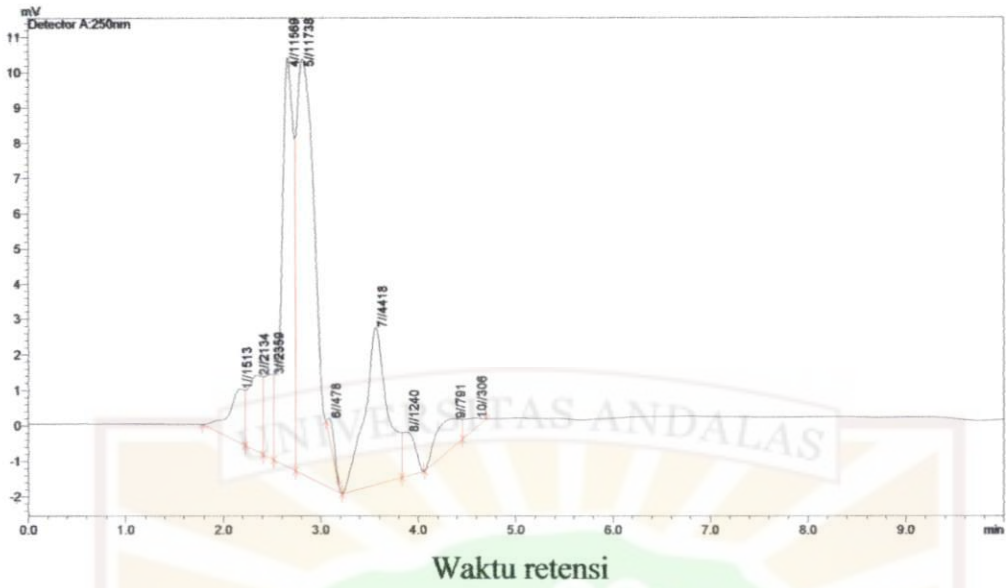


Gambar 13. Kromatogram HPLC kontrol setelah infeksi



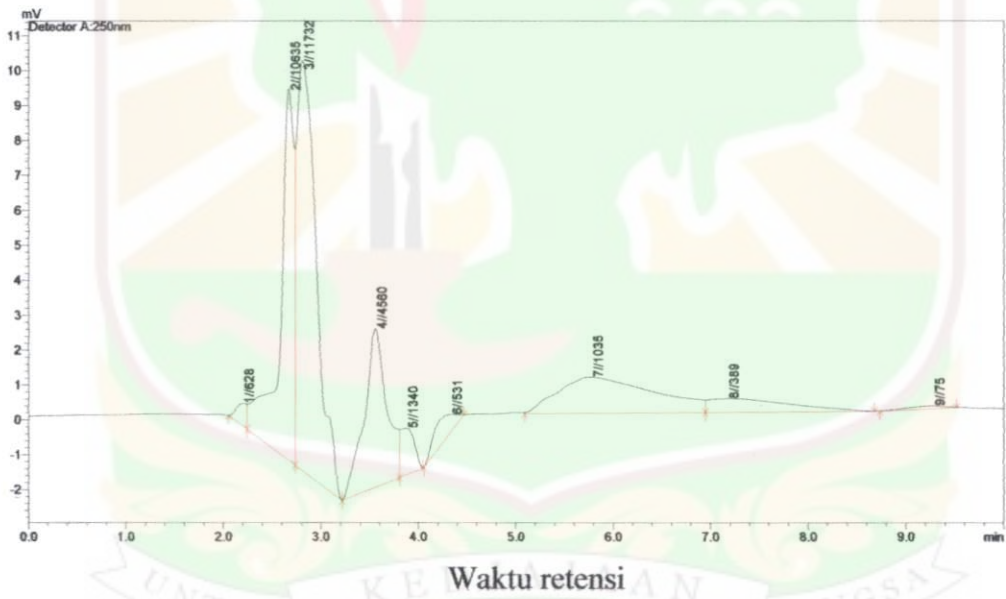
Gambar 14. Kromatogram HPLC sampel 12 jam setelah infeksi

I  
n  
t  
e  
n  
s  
i  
t  
a  
s



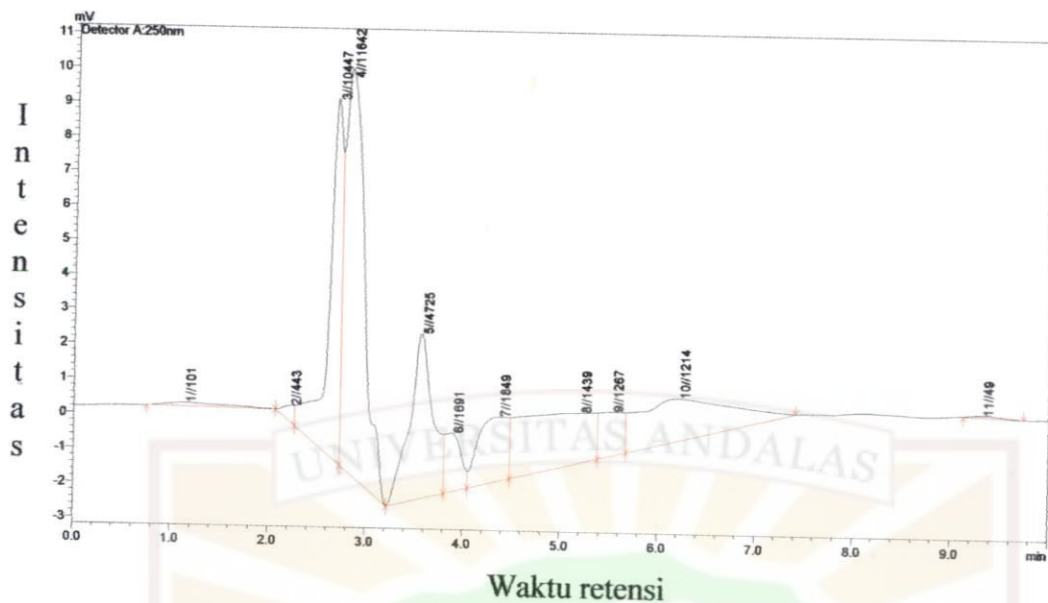
Gambar 15. Kromatogram HPLC sampel 24 jam setelah infeksi

I  
n  
t  
e  
n  
s  
i  
t  
a  
s



Gambar 16. Kromatogram HPLC sampel 36 jam setelah infeksi





Gambar 17. Kromatogram HPLC sampel 48 jam setelah infeksi