

Uji Ketahanan Dan Total Alkaloid Tembakau (*Nicotiana tabaccum*) Setelah Infeksi *Ralstonia solanacearum*

Rofiatun Solekha(1*), Putri Ayu Ika Setiyowati(1), Dimas Arya Nugraha(2), Karin Alifia Rachmadani(1)

1Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Lamongan, Jawa Timur

2Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Lamongan, Jawa Timur

Rofiatunsolekha2@gmail.com (Ca*), putriayuikasetiyowati@gmail.com(2),
nugraha19041993@gmail.com(3), karinalifia28@gmail.com(4)

ABSTRAK

Ralstonia solanacearum merupakan bakteri patogen tanaman non pembentuk spora, gram negatif, aerobik, yang menyebabkan layu di berbagai tanaman inang. Bakteri ini menyebabkan penyakit layu pada tanaman tembakau yang dapat mengakibatkan kematian hingga 50%. Pada tanaman tembakau diperlukan adanya analisis ketahanan berupa kandungan alkaloid, kegunaan alkaloid pada tumbuhan adalah sebagai pelindung dari serangan hama, penguat tumbuhan dan pengatur kerja hormon. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis ketahanan setelah terserang penyakit layu pada tembakau setelah infeksi *R. solanacearum*. Penelitian ini menggunakan varietas kemloko 2 dan kemloko 3 sebagai perlakuan yang tahan, varietas kemloko 1 yang rentan digunakan sebagai kontrol negatif, serta varietas sindoro 1 yang agak tahan sebagai kontrol positif. Analisis ketahanan menggunakan IP dan AUDPC. Hasil penelitian menunjukkan tembakau varietas kemloko 3 mempunyai nilai AUDPC 103,40; kemloko 2 115,74; sindoro 1 205,76; dan kemloko 1 mempunyai nilai AUDPC 350,22. Kemloko 3 adalah varietas paling tahan terhadap infeksi *R. solanaceae* setelah infeksi *R. solanacearum*. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar alkaloid total paling besar dijumpai pada kemloko 3 yaitu $15,760 \pm 0,51$ mg setara nilai kafein/gram. Hal ini menunjukkan bahwa adanya kolerasi antara ketahanan suatu tanaman terhadap banyaknya senyawa alkaloid pada tanaman tersebut. Semakin tahan maka kandungan senyawa lakloid semakin banyak.

Kata Kunci : Alkaloid, AUDPC, IP, *Ralstonia solanacearum*, Tembakau.

ABSTRACT

Ralstonia solanacearum is solanacearum is non forming, gram negative, aerobic plant pathogen that causes wilting in various host plant. *Ralstonia solanacearum* is non these bacteria cause wilt disease in tobacco plants which can cause death by up to 50%. In tobacco plants, resistance analysis in the form of alkaloid content is required, the use of alkaloids in plants is as protection form pest attacks, plant reinforcements and hormone regulators. This study aims to analyze the resistance after developing tobacco wilt disease after *Ralstonia solanacearum* infection. This study used kemloko 2 and kemloko 3 varieties as resistant treathments, kemloko 1 varieties which were susceptible to being used as negative controls, and moderately resistant Sindoro 1 varieties as positive controls. Reliability analysis using IP and AUDPC than the alkaloid cntent analysis using chloroform. The result showed the kemloko 3 variety tobacco had 103, 40 value; kemloko 2 11,74; sindoro 1 205,76; and kemloko 1 has value of AUDPC 350,22. Kemloko 3 is the most resistant variety after *Ralstonia solanacearum* infection. The result of the analysis showed that the highest total alkaloid levels were found in kemloko 3, namely $15,760 \pm 0,51$ mg equivalent to the value of caffeine / gram. This shows that there is a correlation between the resistance of a plant to the many alkaloid compounds in the plant. The more resistant, the more lacloid compound content.

Keywords : Alkaloid, AUDPC, IP, *Ralstonia solanacearum*, Tabacco

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Indonesia memiliki kekayaan hayati yang beraneka ragam dan memiliki manfaat bagi kehidupan. Tingginya keanekaragaman hayati di Indonesia memungkinkan dapat ditemukannya berbagai jenis senyawa kimia. Beberapa diantara senyawa kimia telah banyak ditemukan dapat membantu perkembangan kimia organik bahan alam (Supratman, 2008). Cekaman lingkungan adalah kondisi lingkungan yang memberikan tekanan pada tanaman dan mengakibatkan respon tanaman terhadap faktor lingkungan tertentu lebih rendah daripada respon optimumnya pada kondisi normal. Cekaman lingkungan dapat berupa faktor abiotik dan faktor biotik. Faktor abiotik dapat berupa cahaya, air, suhu dan zat hara dalam tanah, sedangkan yang termasuk faktor biotik ialah herbivora, parasit atau patogen dan predator (Mahmuddin, 2009). Di Indonesia dilaporkan bahwa *R. solanacearum* merupakan patogen merugikan pada beberapa komoditas seperti cengkeh dan garut, pisang, jahe, serta tembakau (Wuryandari 2004). Pada tembakau yang telah diuji menggunakan gas chromatography komponen senyawa kimia yang terkandung sebanyak 22 komponen, tergolong dalam kelompok senyawa alkaloid, hidrokarbon, alkohol, ester, eter, asam lemak, dan isoamyl nitrit dengan salah satu kandungan terbesar adalah nikotin (Yulaikah, 2014). Nikotin merupakan senyawa golongan alkaloid dalam tembakau. Daun tembakau kering mengandung 2-8% nikotin. Nikotin merupakan racun syaraf yang bereaksi cepat dan dapat bertindak sebagai racun kontak pada serangga (Marlin *et al.*, 2014). Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih nitrogen dan biasanya berupa siklik. Alkaloid mengandung atom karbon, hydrogen, nitrogen, dan pada umumnya mengandung oksigen. Senyawa alkaloid banyak terkandung di akar, batang dan daun dari tumbuhan. Senyawa alkaloid merupakan hasil metabolisme dari tumbuh-tumbuhan yang digunakan sebagai cadangan bagi sintesis protein. Kegunaan alkaloid bagi tumbuhan adalah sebagai pelindung dari serangan hama, penguat tumbuhan dan pengatur kerja hormon. Latar belakang, maka perlu dilakukan penelitian tentang uji ketahanan dan kandungan alkaloid varietas pada tembakau terhadap *Ralstolnia solanacearum*.

2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka permasalahan yang dapat diangkat dalam penelitian ini antara lain:

1. Bagaimanakah tingkat ketahanan tembakau terhadap *Ralstolnia solanacearum*?
2. Bagaimanakah kandungan alkaloid total pada tembakau yang terinfeksi *Ralstolnia solanacearum*?

3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan permasalahan yang diajukan, maka tujuan dilakukannya penelitian yaitu:

1. Menganalisis tingkat ketahanan tembakau terhadap *Ralstolnia solanacearum*.
2. Menganalisis kandungan alkaloid total pada tembakau yang terinfeksi *Ralstolnia solanacearum*.

4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini meliputi:

1. Memberikan informasi mengenai tingkat ketahanan padi tembakau terhadap infeksi *Ralstolnia solanacearum* dengan menggunakan AUDPC.
2. Memberikan informasi mengenai kandungan alkaloid dari varietas tembakau terhadap

infeksi *Ralstonia solanacearum*

I. METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Lamongan pada bulan Maret – Oktober 2020.

Rancangan Penelitian atau Model

Perlakuan	Ulangan	Varietas			
		Kemloko 1 (1)	Kemloko 2 (2)	Kemloko 3 (3)	Sindoro 1 (4)
Tanpa infeksi (A)	1	A1.1	A2.1	A3.1	A4.1
	2	A1.2	A2.2	A3.2	A4.2
	3	A1.3	A2.3	A3.3	A4.3
Infeksi (B)	1	B1.1	B2.1	B3.1	B4.1
	2	B1.2	B2.2	B3.2	B4.2
	3	B1.3	B2.3	B3.3	B4.3

Bahan dan Peralatan

Alat

Silk, kertas label, bolpoint marker, ose, pengaduk, pH meter, kompor, panci, timbangan analitik, kertas, karet, gunting, aluminium foil, plastik, korek, gloves, masker, spektrofotometer IR dari isolate murni fraksi 7

Bahan

Pereaksi Mayer, pereaksi Dragendroff, dan pereaksi Wagner, Ekstrak kental metanol, kloroform amoniak, asam sulfat (H₂SO₄) 2 N, ekstrak sampel, etanol.

Prosedur Penelitian

Pengamatan Gejala Serangan Penyakit HDB dengan Penghitungan Intensitas Penyakit dan AUDPC.

Pengamatan dilakukan pada minggu kesatu, minggu kedua, minggu ketiga dan minggu keempat setelah inokulasi. Skala kerusakan dihitung menggunakan rumus menurut Suparyono (2004) sebagai berikut:

Intensitas penyakit dihitung dengan rumus:

$$IP = \frac{\sum n \times v}{N \times Z} \times 100\%$$

Keterangan :

- IP = intensitas penyakit
- N = jumlah tanaman yang diamati
- Z = Kategori yang tertinggi
- n = jumlah tanaman dari setiap kategori serangan
- v = kategori serangan

AUDPC dihitung dengan menggunakan rumus yang dikemukakan oleh Ahmed *et al.* (1999) yang disitasi oleh Solekha, *et al.*, (2019), sebagai berikut :

$$AUDPC = \frac{\sum_{i=1}^n \left[\frac{X_{i+1} + X_i}{2} \right] \times [t_{i+1} - t_i]}{N - 1}$$

Keterangan :

- Xi = Keparahan penyakit pada waktu pengamatan
 T = Waktu sesudah infeksi tampak di lapangan
 N = Jumlah pengamatan

Preparasi Sampel

Sampel dikeringkan dengan cara dioven selama 2 jam kemudian dihaluskan. sampel diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 2 hari, metode pelaritan senyawa dilakukan sampai 3 kali. Filtrate yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental yang siap digunakan untuk bahan uji.

Penentuan Kadar Alkaloid

Ekstrak daun tembakau ditambahkan 25 mL HCl 2% dan 25 mL N-Hexana, kemudian diekstraksi dalam corong pisah 500 ml. ekstrak asam klorida ditambahkan ammonium hidroksida 35% sampai pH 9, ditambahkan 25 ml kloroform dan diekstrak dalam corong pish 250 ml. pemberian kloroform dilakukan 2 kali dan diuapkan sampai didapat padatan crude alkaloid total.

Analisis Kuantitatif Alkaloid Total

Ditimbang sekitar 10 gram ekstrak kering lalu dilarutkan dalam 50 ml etil asetat, kemudian disaring. Residu disiapkan untuk isolasi alkaloid total. Residu dilarutkan dengan 50 ml metanol dan ditambahkan HCl 2N sampai pH 2, kemudian dipartisi dengan 50 ml kloroform. Lapisan kloroform dipisahkan lalu diidentifikasi keberadaan alkaloid. Lapisan metanol ditambahkan dengan NH₄OH 1 N hingga pH 12 kemudian dipartisi lagi dengan 50 ml kloroform. Lapisan kloroform dipisahkan lalu diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kloroform (alkaloid total) lalu dikeringkan dan ditimbang. Total alkaloid diuji fitokimia untuk memastikan adanya alkaloid (Ginting dkk, 2013)

II. HASIL DAN PEMBAHASAN

A.Hasil

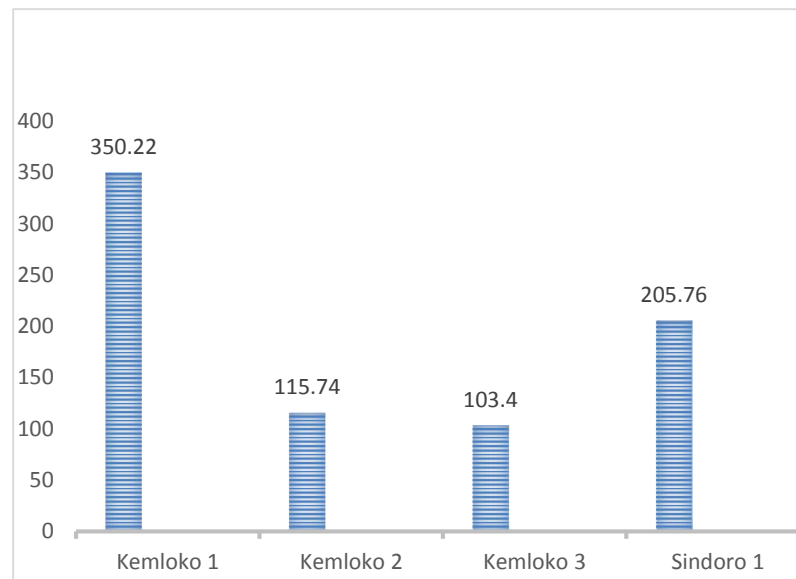
Tabel 1. Intensitas penyakit daun tembakau

	Varietas	Minggu ke-1 (%)	Minggu ke-2 (%)	Minggu ke-3 (%)	Minggu ke-4 (%)
Intensitas Penyakit	Kemloko 1	20,65 ^c	44,81 ^e	54,76 ^g	75,73 ^h
	Kemloko 2	15,62 ^b	32,43 ^d	43,27 ⁱ	56,22 ^f
	Kemloko 3	9,44 ^a	20,15 ^c	33,21 ^d	35,43 ^d
	Sindoro 1	12,37 ^b	24,71 ^c	37,52 ^h	42,47 ^e

Angka-angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata dengan uji dmrt pada taraf kepercayaan 95%

Berdasarkan hasil uji DMRT, menunjukkan bahwa pada setiap varietas menunjukkan adanya peningkatan nilai IP yang signifikan pada minggu pertama, minggu kedua, minggu ketiga dan minggu keempat yaitu dengan adanya perbedaan yang nyata antara varietas dengan nilai IP tiap minggu. Pada varietas kemloko 3 mempunyai nilai IP yang paling rendah dibandingkan dengan varietas yang lain baik minggu kesatu yaitu 9,44%, minggu kedua yaitu 20,25%, minggu ketiga yaitu 33,21% maupun minggu keempat yaitu 35,43%. Reaksi ketahanan suatu varietas tanaman terhadap patogen dapat dinilai berdasarkan pendek panjangnya masa inkubasi (periode laten), rendah tingginya keparahan penyakit yang dinyatakan dalam persen serta rendah-tingginya laju infeksi (Solekha *et al.*, 2019). Fase kritis tanaman terhadap infeksi biasanya pada umur 2–3 minggu. Pada tingkat serangan ringan gejala layu hanya terlihat pada sebagian cabang, sedangkan serangan parah

menyebabkan kerusakan sistemik seluruh batang dan cabang menjadi layu, kemudian tanaman mengering dan akhirnya mati (Rahayu, 2012).



Gambar 1. Perbandingan AUDPC pada daun tembakau

Berdasarkan nilai IP, maka dapat diketahui perkembangan penyakit dalam bentuk kurva yaitu AUDPC (gambar 1), semakin tinggi nilai AUDPC maka suatu varietas dikatakan semakin rentan. Hasil uji DMRT menunjukkan bahwa setiap varietas mempunyai nilai AUDPC yang berbeda nyata. Varietas kemloko 1 mempunyai nilai AUDPC paling besar dibandingkan dengan varietas yang lain yaitu 350,22 sehingga varietas kemloko 1 merupakan varietas yang paling rentan diantara varietas yang lain. Pada varietas kemloko 3 menunjukkan nilai AUDPC paling kecil dibandingkan dengan kultivar yang lain yaitu 103,4 sehingga varietas kemloko 3 merupakan varietas yang paling tahan dibandingkan dengan varietas yang lainnya. Masa inkubasi penyakit menjadi salah satu faktor yang menentukan virulensi suatu patogen, demikian pula sebaliknya masa inkubasi penyakit yang lama menandakan suatu varietas tahan terhadap suatu patogen (Rahim, 2012).

B. Pembahasan

Uji kadar pada ekstrak alkaloid total dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 470 nm. Pada penelitian ini, dilakukan ekstraksi terlebih dahulu. Ekstrak alkaloid total diekstraksi kembali dengan kloroform yang kemudian ditambahkan pereaksi Bromocresol green dan dapar phosphate pH 4,7. Dapar phosphate menggunakan pH 4,7 agar pH nya dapat dipertahankan. Ekstraksi ini dilakukan untuk menarik kembali senyawa alkaloid sehingga pada proses pengukuran nilai absorbansi senyawa alkaloid mudah didapat. Nilai kadar alkaloid total dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. Kadar Alkaloid Total

Sampel	Nilai rata-rata kadar (mg setara nilai kafein/gram) kontrol	Nilai rata-rata kadar (mg setara nilai kafein/gram) terinfeksi
Kemloko 1	8,040 ± 0,45	6,070 ± 0,25
Kemloko 2	10,677 ± 0,52	8,355 ± 0,33
Kemloko 3	17,279 ± 0,41	15,760 ± 0,51

Sindoro 1	15,451 ± 0,62	13,861 ± 0,44
-----------	---------------	---------------

Dari tabel 2 dijelaskan bahwa kadar alkaloid total paling besar dijumpai pada kemloko 3 yaitu 15,760 ± 0,51 mg setara nilai kafein/gram, sedangkan kadar alkaloid total yang paling rendah dijumpai pada kemloko 1. Kemloko 2 mempunyai kadar alkaloid lebih tinggi dibandingkan kemloko 1 yaitu 8,355±0,33 mg setara nilai kafein/gram dan lebih rendah dibandingkan sindoro 1, sedangkan sindoro 1 mempunya kadar lebih rendah dibandingkan dengan kemloko 3 yaitu 13,861 ± 0,44 mg setara nilai kafein/gram. Hal ini menunjukkan bahwa adanya kolerasi antara ketahanan suatu varietas terhadap kadar alkaloid pada tanaman tembakau.

III. KESIMPULAN

Berdasarkan nilai AUDPC, varietas kemloko 3 paling tahan dibandingkan dengan varietas yang lain yaitu 350,22 dan kadar alkaloid kemloko 3 paling besar dibandingkan dengan kadar alkaloid varietas sindoro 3 yaitu 15,760 ± 0,51.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd. Rahim dan Diah Retno Dwi Hastuti. 2007. *Ekonomika Pertanian, Pengantar Teori dan Kasus*. Penebar Swadaya.
- Away, Y. 1985. *Evaluasi Pengaruh Beberapa Marga Mikroorganismes pada Fermentasi Biji Kakao Terhadap Mutu Cita Rasa Indeks Fermentasi*. Tesis. ITB. Bandung.
- Markham, K.R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Penerbit ITB, Bandung.
- Mulyani, S. dan Gunawan, D. (2010). *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*, Jilid 1. Penerbit: Penebar Swadaya, Jakarta.
- Solekha, Rofiatun, Febri Adi Susanto, Tri Joko, Tri Rini Nuringtyas, Yekti Asih Purwestri. 2019. Phenylalanine ammonia lyase (PAL) contributes to the resistance of black rice against *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. *Journal of Plant Pathology*, 1-7.
- Suparyono, Sudir, & Suprihanto. 2004. Pathotype Profile of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Isolates from the Rice Ecosystem in Java. *Indonesian Journal of Agriculture Science* 5: 63-69.
- Supratman, U. (2010). *Elusidasi Struktur Senyawa Organik (metode spektroskopi untuk penentuan struktur senyawa organik)*. Widya Padjadjaran, Bandung.

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
23 Februari 2021	25 Februari 2021	12 Maret 2021	Ya