

**Pengaruh Alelokimia Ekstrak Gulma *Pilea microphylla* terhadap Kandungan Superoksida dan Perkecambahan Sawi Hijau (*Brassica rapa* var. *parachinensis*)**

**The Effect of *Pilea microphylla*'s Alelochemical Extract to the content of Superoxide and Germination of Mustard Green (*Brassica rapa* var. *Parachinensis*)**

**Hesti Siti Astuti<sup>1\*</sup>, Sri Darmanti<sup>2</sup>, Sri Haryanti<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

<sup>2</sup>Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang

\*Email : hestisa23@gmail.com

Diterima 28 Desember 2016/Disetujui 22 Februari 2017

## PENDAHULUAN

Sawi hijau (*Brassica rapa* var. *parachinensis*) adalah jenis tanaman sayuran yang banyak dikonsumsi masyarakat. Tanaman ini dapat tumbuh baik pada tempat dengan ketinggian 5 - 1.200 meter di atas permukaan laut, tanah yang gembur dan subur serta drainase yang baik (Cahyono, 2003; Edi dan Yusri, 2010). Gulma adalah tanaman yang tumbuh pada tempat yang tidak diinginkan. *Pilea microphylla* adalah salah satu gulma pada pertanaman sawi hijau. *Pilea microphylla* memiliki daun berbentuk bulat telur, tersusun berpasangan dan berseling. Daun yang berpasangan tersebut salah satunya terlihat lebih kecil dan bertangkai lebih pendek sedangkan yang satunya berukuran lebih besar. Gulma *Pilea microphylla* mengandung 6 polifenol yaitu *quercetin-3-O-rutinoside*, *3-O-caffeoylquinic acid*, *luteolin-7-O-glucoside*, *apigenin-7-O-rutinoside*, *apigenin-7-O-β-D-glucopyranoside* dan *quercetin* (Bansal, 2011)

Alelopati adalah interaksi antar tumbuhan atau antara tumbuhan dengan mikroorganisme yang bersifat menguntungkan ataupun merugikan melalui pelepasan senyawa kimia ke lingkungan (Rice, 1984). Menurut Sastroutomo (1990), senyawa kimia yang memiliki potensi pada peristiwa alelopati disebut sebagai alelokimia, yang terdapat pada semua bagian organ tumbuhan seperti akar, rhizoma, batang, daun, buah dan bunga. Alelokimia merupakan metabolit sekunder, termasuk diantaranya adalah asam lemak, quinon, terpenoid, flavonoid, tanin, asam sinamat dan derivatnya, asam benzoat dan derivatnya, cumarin, fenol dan asam fenolat, asam amino non protein, sulfida serta nukleosida (Raden, dkk., 2008).

Fenol adalah senyawa yang mempunyai sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Rumus kimia  $C_6H_5OH$  dan strukturnya memiliki gugus hidroksil (-OH) yang berikatan dengan cincin fenil. Menurut Solichatun (2000), fenol dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman diantaranya dalam hal penyerapan unsur hara, menurunkan kecepatan penyerapan ion-ion oleh tumbuhan, menghambat pembelahan sel-sel akar tumbuhan, menghambat aktivitas fotosintesis

terutama penutupan stomata, mempengaruhi respirasi, menghambat sintesis protein, menurunkan permeabilitas membran dan menghambat aktivitas enzim. Tumbuhan yang terkena alelokimia akan meningkatkan sintesis dan akumulasi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam jumlah yang berlebih. ROS merupakan senyawa oksidan yang sangat reaktif. Pengaruh negatif ROS pada tumbuhan disebabkan oleh aktivitasnya yang dapat menyebabkan kerusakan komponen sel. ROS yang umum terbentuk adalah  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  dan OH (Sharma *et al*, 2012).

Perkecambahan merupakan tahap awal perkembangan tumbuhan, khususnya tumbuhan berbiji. Dalam tahap ini, embrio di dalam biji yang semula berada pada kondisi dorman setelah imbibisi mengalami sejumlah perubahan fisiologis akan berkembang menjadi tumbuhan muda yang disebut sebagai kecambah. Penelitian ini bertujuan mengkaji pengaruh alelokimia ekstrak *Pilea microphylla* terhadap kandungan superoksida, perkecambahan dan pertumbuhan kecambah sawi hijau.

## METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan : gulma *Pilea microphylla* yang diperoleh dari lingkungan sekitar kampus FSM UNDIP, benih sawi hijau (*Brassica rapa* var. *parachinensis*) diperoleh dari perkebunan Desa Benteng Purwakarta,  $Na_2CO_3$ , Folin-Ciocalteu,  $NaN_3$ , Nitro Blue Tetrazolium (NBT), metanol dan buffer fosfat.

Alat yang digunakan : cawan petri, kamera, timbangan digital, kertas saring, labu ukur, pipet, stirer, mortar, spektrofotometer, sentrifus, *micro tube*, corong, inkubator, oven dan blender.

**Ekstraksi** alelokimia *Pilea microphylla* : seluruh bagian gulma *Pilea microphylla* dikering anginkan selama 24 jam pada kondisi gelap. Untuk mendapatkan ekstrak 100%, 100 gr *Pilea microphylla* diblender dengan menambahkan 100 mL air, kemudian disaring dengan kertas saring. Ekstrak kemudian diencerkan, sesuai konsentrasi perlakuan yaitu 75%, 50% dan 25% dan disimpan di dalam kulkas sampai digunakan untuk perlakuan.

**Perkecambahan dan perlakuan** : Benih sawi hijau diseleksi, dipilih yang mempunyai bentuk dan ukuran sama dengan kulit tidak keriput. Perkecambahan benih sawi hijau dilakukan pada cawan petri yang diberi alas kapas dan kertas saring. Pada masing masing petri dikecambahkan 10 benih sawi hijau. Perlakuan dengan memberikan ekstrak alelokimia dengan konsentrasi sesuai perlakuan pada cawan petri yang telah berisi benih sawi hijau. Perlakuan dilakukan setiap hari dengan volume ekstrak yang sama pada semua perlakuan. Perlakuan dihentikan setelah terjadi perkecambahan 100% pada minimal satu petri. Semua parameter diukur pada akhir perlakuan. Laju perkecambahan dihitung menggunakan rumus menurut Sutopo (1998). Persentase perkecambahan dihitung dengan menggunakan rumus menurut Ista (1972).

**Penentuan kadar superoksida** : berdasarkan protokol yang digunakan Darmanti *et al.* (2016). Ekstraksi : kecambah sawi hijau sebanyak 0,143 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 2 ml buferfosfat 50 mM pH 7,8 yang mengandung 0,05% NBT (Nitro Blue Tetrazolium) dan 10 mM  $\text{NaN}_3$ . Selanjutnya diinkubasi selama 5 menit dalam suhu ruang pada kondisi gelap. Diambil 2 ml larutan sampel dipanaskan pada suhu  $85^\circ\text{C}$  selama 10 menit menggunakan water bath. Larutan sampel didinginkan menggunakan ice bath selama 5 menit. Kemudian, larutan sampel diukur absorbannya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 589 nm. Kandungan superoksida dinyatakan dalam absorban/ berat segar sampel) / (A/g).

**Penentuan kadar fenol total gulma *Pilea microphylla*** berdasarkan metode yang digunakan Bhaskar, *et al* (2011). *Pilea microphylla* yang telah dicuci bersih dan dikering anginkan sebanyak 0,5 gram dihaluskan dengan menggunakan mortar, ditambahkan metanol 96% hingga volume 5 ml. Diambil 2 ml, ditambahkan reagen Follin-Cealtea sebanyak 100  $\mu\text{l}$  dan aquades 1,58 ml. Kemudian larutan dihomogenkan dengan vortex selama 15 detik dan dipanaskan pada suhu  $45^\circ\text{C}$  selama 15 menit. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit dan ditambahkan sodium karbonat 75% sebanyak 300  $\mu\text{l}$ , dan disentrifus

sampai homogen. Absorban larutan diukur pada  $\lambda$  769 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Konsentrasi fenol total ditentukan berdasarkan kurva standar asam galat.

Data yang diperoleh dianalisis dengan *Analisis of Variance* (ANOVA) pada taraf kepercayaan 95%, dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).

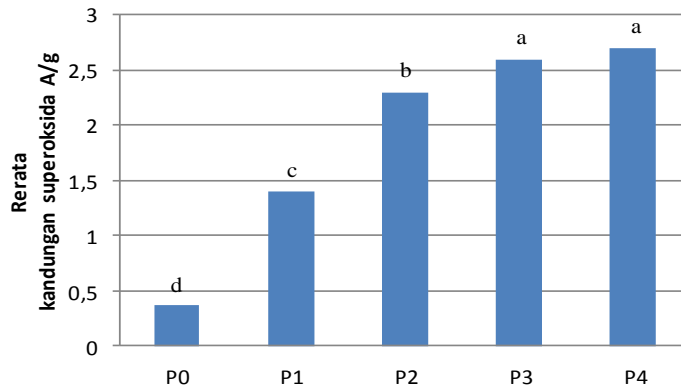
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran kandungan fenol total pada ekstrak 100% gulma *Pilea microphylla* adalah 8.242  $\mu\text{g/g}$ . Hasil analisis *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf signifikansi 95% terhadap kandungan superoksida menunjukkan bahwa semua perlakuan alelokimia ekstrak gulma *Pilea microphylla* meningkatkan akumulasi superoksida pada kecambah sawi hijau. Semakin tinggi konsentrasi alelokimia ekstrak gulma *Pilea microphylla*, kandungan superoksida semakin meningkat tetapi antara konsentrasi 75% dengan 100% tidak menunjukkan perbedaan yang nyata (Gambar 1).

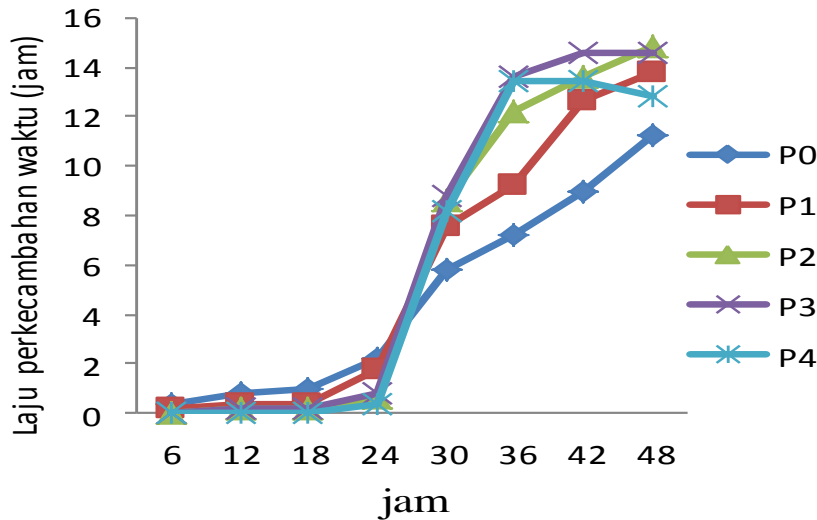
Kondisi tersebut menunjukkan bahwa alelokimia ekstrak *Pilea microphylla* mengakibatkan kecambah sawi mengalami cekaman oksidatif yang menyebabkan sintesis dan akumulasi ROS meningkat, menjadi lebih tinggi jika dibandingkan pada kondisi normal. Salah satu bentuk ROS tersebut adalah superoksida. Bagian sel kecambah yang pertama kali mengalami dampaknya adalah akumulasi ROS adalah bagian membran sel. Hal tersebut menyebabkan penurunan integritas sel sehingga terjadi gangguan proses fisiologis membran. Hal ini sesuai dengan pernyataan Nurhayati dkk (2011) bahwa superoksida merupakan salah satu radikal bebas yang terbentuk dalam jumlah yang banyak akibat adanya senyawa asing termasuk alelokimia yang menyebabkan cekaman oksidatif pada tanaman target sehingga menyebabkan kerusakan dan gangguan aktivitas metabolisme yang dapat mengakibatkan kerusakan dan gangguan pada fungsi fisiologis tanaman tersebut. Menurut Sharma *et al* (2012) pembentukan ROS dimulai dengan pengaktifan  $\text{O}_2$  yaitu dengan penyerapan energi yang cukup membalikkan orbital di salah

satu elektron yang tidak berpasangan dan pengurangan monovalen yang akan membentuk superoksida ( $O_2^-$ ). Superoksida merupakan ROS yang pertama kali dibentuk sebelum ROS lainnya. Hasil analisis *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf signifikansi 95% terhadap perkecambahan sawi hijau menunjukkan bahwa alelokimia ekstrak *Pilea microphylla* tidak berpengaruh nyata terhadap laju perkecambahan sawi hijau, meskipun terdapat kecenderungan

bahwa semakin tinggi konsentrasi alelokimia ekstrak *Pilea microphylla* dan semakin lama waktu perkecambahan, menunjukkan laju perkecambahan yang semakin meningkat. Laju perkecambahan baru terlihat meningkat pada jam ke 24. Pada jam ke 42 menunjukkan laju perkecambahan tertinggi, dan menunjukkan pola yang hampir sama pada semua konsentrasi perlakuan, sedangkan pada kontrol menunjukkan laju perkecambahan yang paling rendah (Gambar 2).



Gambar 1. Rerata kandungan superoksida kecambah sawi hijau (*Brassica rapa* var. *parchinensis*) akibat perlakuan alelokimia ekstrak gulma *Pilea microphylla* pada konsentrasi berbeda



Gambar 2. Laju perkecambahan sawi hijau (*Brassica rapa* var. *parachinensis*) akibat perlakuan alelokimia ekstrak *Pilea microphylla* pada konsentrasi yang berbeda

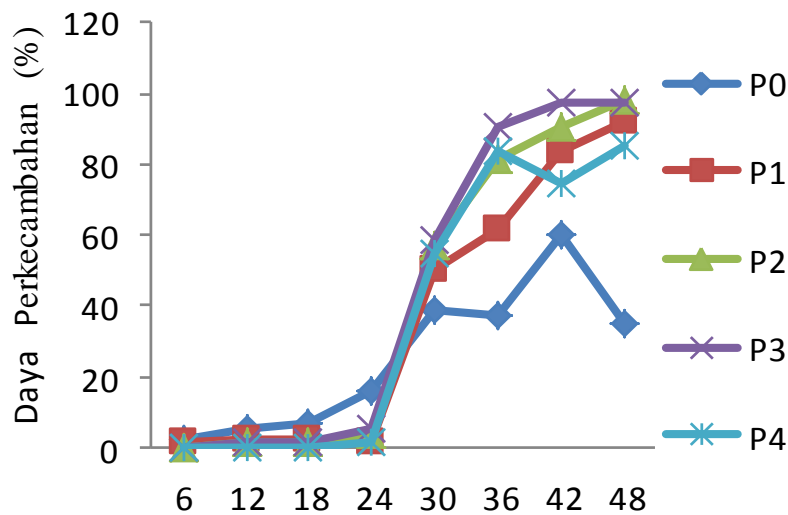
Hasil analisis menunjukkan bahwa alelokimia ekstrak *Pilea microphylla* tidak berpengaruh nyata terhadap persen

perkecambahan sawi hijau, meskipun terdapat kecenderungan semakin tinggi konsentrasi

alelokimia persen perkecambahan semakin turun (Gambar 3).

Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian alelokimia ekstrak *Pilea microphylla* sampai konsentrasi 100% tidak menyebabkan penghambatan laju perkecambahan maupun daya perkecambahan sawi hijau. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Damayanti (2012) yang menunjukkan bahwa ekstrak Kirinyuh tidak menghambat laju perkecambahan sawi. Wattimena (1987) menyatakan bahwa fenol dapat menghambat proses mitosis dengan merusak benang-benang spindel di dalam sel pada tahap metafase sehingga pembelahan dan perkecambahan sel menjadi terhambat. Menurut

Green dan Corcoran (1987) senyawa monofenol yang masuk ke dalam sel akan meningkatkan dekarboksilasi IAA yang menyebabkan IAA tidak aktif sehingga pertumbuhan akan terhambat. Selain hal tersebut, fenol juga dapat menjadi inhibitor protein dan enzim khusus yang bisa mengenal hormon GA yang berperan dalam proses perkecambahan sehingga fenol yang berikatan dengan GA akan mengakibatkan GA tidak aktif, yang akhirnya proses perkecambahan menjadi terganggu. Akan tetapi menurut Sutopo (2012) masing-masing benih mempunyai daya berkecambah atau viabilitas yang berbeda, dikarenakan perbedaan faktor fisiologi pada setiap benih.



Gambar 3. Persentase perkecambahan sawi hijau (*Brassica rapa* var. *parachinensis*) akibat perlakuan alelokimia ekstrak *Pilea microphylla* pada konsentrasi yang berbeda

Hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf signifikansi 95% terhadap pertumbuhan awal kecambah menunjukkan bahwa alelokimia ekstrak *Pilea microphylla* berpengaruh nyata menurunkan panjang kecambah, panjang hipokotil, panjang akar, bobot basah dan bobot kering kecambah sawi hijau. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar penurunan yang terjadi (Tabel 2 & Gambar 4).

Menurut Sitompul dan Guritno (1995), tinggi tanaman merupakan parameter penelitian pada pertumbuhan tanaman yang paling mudah

diamati karena sangat sensitif terhadap lingkungan tertentu. Tinggi kecambah pada konsentrasi perlakuan P0 (kontrol) lebih tinggi dibandingkan dengan pada semua konsentrasi perlakuan, tetapi antara perlakuan konsentrasi 50% dengan 75% tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini sesuai dengan pendapat Susanto (2012) yang menyatakan bahwa penurunan tinggi tanaman terjadi dikarenakan adanya bahan organik (alelokimia) pada tanaman dengan konsentrasi tinggi, sehingga menyebabkan keracunan pada tanaman tersebut yang akhirnya mengganggu

proses fisiologis tanamannya. Hasil pengamatan tinggi kecambah ini menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak *Pilea microphylla* dengan konsentrasi tinggi menghambat pertumbuhan tinggi kecambah sawi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Damayanti (2012) bahwa penambahan ekstrak Kirinyuh yang mengandung fenol dengan konsentrasi tinggi dapat mengganggu pertumbuhan tinggi tanaman sawi.

Rice (1984) menyatakan bahwa alelokimia yang terkandung dalam suatu tanaman dapat menghambat pertumbuhan tanaman lain dengan cara menghambat pembentukan hormon seperti asam indol asetat (IAA) yang berperan dalam proses pemanjangan sel. Alelokimia dengan jenis fenolik dan flavonoid yang tinggi akan menguraikan IAA menjadi IAA oksidase sehingga proses pemanjangan sel akan terhambat.

Tabel 1. Rerata panjang hipokotil (cm), tinggi kecambah (cm), panjang akar (cm), bobot basah (g), bobot kering (g) kecambah sawi hijau (*Brassica rapa* var. *parachinensis*) akibat perlakuan alelokimia ekstrak *Pilea microphylla* pada konsentrasi yang berbeda

Konsentrasi alelokimia (%)	Panjang Hipokotil (cm)	Tinggi Kecambah (cm)	Panjang Akar (cm)	Bobot Basah (g)	Bobot Kering (g)
0	19,8 <sup>a</sup>	56,4 <sup>c</sup>	20,3 <sup>a</sup>	343,9 <sup>a</sup>	0,2 <sup>a</sup>
25	15,7 <sup>b</sup>	69,4 <sup>a</sup>	22,8 <sup>a</sup>	343,8 <sup>a</sup>	0,12 <sup>a</sup>
50	12,5 <sup>c</sup>	68,7 <sup>b</sup>	18,8 <sup>b</sup>	309,7 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>
75	11,1 <sup>b</sup>	67,5 <sup>b</sup>	13,3 <sup>c</sup>	307,8 <sup>a</sup>	0,019 <sup>a</sup>
100	7,3 <sup>d</sup>	42,9 <sup>d</sup>	12,5 <sup>c</sup>	261,5 <sup>a</sup>	0,01 <sup>a</sup>

Keterangan : Angka-angka pada satu kolom yang diikuti huruf sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata pada tingkat kepercayaan 95%



Gambar 4. Kecambah sawi hijau (*Brassica rapa* var. *parachinensis*) umur 48 jam akibat perlakuan alelokimia ekstrak *Pilea microphylla* pada konsentrasi yang berbeda

Hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi perlakuan, semakin rendah rerata panjang akar yang terbentuk, namun pada perlakuan konsentrasi alelokimia ekstrak *Pilea microphylla* 75% dan 100% tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Rice (1984) menyatakan bahwa akar dapat menyerap air dan mencari daerah penyerapan yang cukup luas dan yang tidak

terdapat alelokimia sehingga akar tumbuh secara normal. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini bahwa pada perlakuan konsentrasi ekstrak 50%, 75% dan 100% panjang akar tanaman sawi turun. Hasil ini Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh WU *et al* (1998) yaitu pemberian ekstrak daun *Bucloe dacyloides* yang mengandung senyawa fenolik dalam kadar yang tinggi dapat

mengganggu permeabilitas membran sel dan dapat menghambat fungsi enzim dalam metabolisme sel. Menurut (Einhellig, 1994) kumarin merupakan salah satu senyawa fenolik yang mampu menghambat proses pembelahan sel dan mengakibatkan sel-sel akar tanaman berdiameter lebih besar tetapi memiliki panjang yang lebih pendek. Hasil penelitian Liu (1993) menunjukkan bahwa alelokimia pada tumbuhan dapat merusak struktur dinding sel dan juga organel-organel di dalam sel dengan cara membentuk tetesan-tetesan lipid yang akan memperlambat metabolisme dalam pembentukan cadangan makanan, akibatnya menyebabkan akar menjadi lebih pendek.

Menurut Dwijoseputro (1993) berat basah dan kering tanaman dipengaruhi oleh kandungan air di dalam sel tanaman serta pertumbuhan akar, batang dan daun. Ketersediaan air yang cukup akan mengoptimalkan proses fotosintesis, sehingga menghasilkan asimilat untuk perkembangan tanaman lebih cepat, sehingga berat basah tanaman akan bertambah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sastroutomo (1990) bahwa alelokimia dapat berpengaruh terhadap nilai berat basah dan kering suatu tanaman yaitu dengan menghambat pengikatan air di dalam media tumbuh. Apabila terjadi gangguan pada pengikatan air oleh tanaman, maka akan menurunkan fungsi sel akar dalam penyerapan ion dari media tanam sehingga pertumbuhan vegetatif tanaman akan terganggu karena sedikitnya kebutuhan nutrisi yang diserap dan akhirnya menyebabkan penurunan nilai bobot basah dan kering tanaman. Penurunan bobot basah dan kering tanaman terjadi karena pemberian alelokimia ekstrak *Pilea microphylla* yang mengandung fenol dapat menghambat fungsi fisiologis di dalam jaringan yang menyebabkan terganggunya proses penyerapan nutrisi dan fotosintesis yang nantinya akan berpengaruh terhadap kecukupan nutrisi yang dihasilkan sehingga salah satunya akan menurunkan rerata bobot basah dan kering tanaman sawi hijau tersebut. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Walters dan Gilmore (1976) bahwa efek alelokimia ekstrak *Festuca arundinaceae* dapat menghambat pertumbuhan dan penurunan bobot basah dan bobot kering *Liquidambar styraciflua* karena mengganggu kemampuan tanaman dalam

menyerap air dan nutrisi. Ratna (2012) menyatakan bahwa jika terjadi kekurangan nutrisi dalam tanaman maka akan terjadi penurunan bobot basah dan kering tanaman. Menurut Lakitan (1996), bobot basah dan kering tanaman merupakan akumulasi dari senyawa-senyawa organik hasil sintesa tanaman dari senyawa anorganik bobot kering tanaman

## KESIMPULAN

Alelokimia ekstrak *Pilea microphylla* dari konsentrasi 25% sampai 100% menyebabkan peningkatan kandungan superoksida dan menghambat pertumbuhan awal kecambah sawi hijau (*Brassica rapa* var. *parachinensis*), namun tidak mempengaruhi perkecambahan yang dilihat dari laju perkecambahan dan daya kecambah sawi hijau.

*Pengaruh Alelokimia Ekstrak Gulma Pilea microphylla terhadap Kandungan Superoksida dan Perkecambahan Sawi Hijau (Brassica rapa var. parachinensis)*