Forum Pascasarjana (1991) 14 (1) : 13 - 23.

PENGARUH STRESS AIR DAN pH TANAH TERHADAP KEMUNGKINAN TIMBULNYA SENYAWAAN STRESS PADA TANAMAN KENTANG (*Solanum tuberosum* L.)[1)]

(Effect of water and soil pH stress on the existence of stress metabolites in potato (*Solanum tuberosum* L.)

Latifah K. Darusman, Oetit Koswara, J. Wiroatmodjo, Sitanala Arsjad[2)]

ABSTRACTS

This research used potato (*Solanum tuberosum* L.) of Cipanas variety as the experimental plant, and was conducted at the Department of Chemistry laboratory and Pasir Sarongge Experimental Station, on June 1989 up to April 1990. The objectives were to identify stress metabolite compounds, to evaluate the stress metabolite as phytoalexin compounds and to study the changes of aminoacid composition. The stress treatments were given trough different pH and volume of water supplies. Using amino acid analyzers, it was shown that there was a difference in the amino acid composition caused by the stress treatment, but the difference was not specific. The metabolites of glicoalkaloid, through qualitative chromatographic analysis, had been identified as α and β chaconine, while the α-solanine content, through a quantitative analysis, was discovered 30 mg - 98 mg/100 g tubers. The stress metabolites of terpenoid had a maximum absortion at 250-256 nm. It was speculated to be sesquiterpene lactone having 3 double bonds or hetero atoms. Since the terpenoid was not identified yet, the phytoalexin can not be identified.

PENDAHULUAN

Stress dapat diartikan sebagai keadaan yang dapat merusak kesetimbangan suatu sistem. Dalam pertumbuhan tanaman gangguan kesetimbangan dapat berasal dari faktor lingkungan tumbuh atau berasal dari sifat tanamannya. Berdasarkan faktor lingkungan tumbuh diperoleh klasifikasi derajat toleransi tumbuh tanaman. Tanaman dikatakan toleran, bila tanaman tersebut dapat tumbuh dalam kondisi sub-optimal. Levit (1978) menyatakan bahwa pada keadaan sub-optimal, tanaman sebenarnya sudah menderita stres, tetapi stres yang dapat balik yaitu stres yang dapat diatasi oleh tanaman tersebut. Bila tanaman tidak bisa mengatasi, gejala stres biasanya dicirikan oleh kerusakan sel permanen, maka stres yang dialami tanaman dikatakan sebagai stres yang tidak dapat balik.

[1)]Sebagian dari Thesis Magister Sains Fakultas Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Penelitian yang dibiayai oleh DP_3M Depdikbud.

[2)]Berturut-turut Staf Pengajar pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan IPA, Institut Pertanian Bogor dan Komisi Pembimbing.

Tanaman kentang termasuk jenis tanaman yang tidak toleran terhadap kekeringan, tetapi toleran terhadap keadaan pH tanah baik tinggi maupun rendah (Duke, 1978).

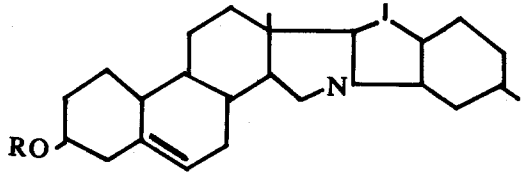
Osman, *et al.* (1979), menyatakan bahwa berdasarkan penyebabnya terdapat dua jenis stres yaitu stres spesifik dan stres non spesifik. Stres spesifik adalah stres yang timbul akibat adanya jamur atau bakteria, sedangkan stres nonspesifik adalah semua stress diluar kedua hal tersebut. Kedua jenis stres tersebut dapat menimbulkan senyawa metabolit sekunder tertentu yaitu yang disebut metabolit stres. Metabolit stres yang dihasilkan oleh stres spesifik bersifat khas dan berfungsi sebagai senyawa pertahanan diri atau phytoalexin, sedangkan yang dihasilkan oleh stres yang nonspesifik lebih beragam dan bisa berasal dari berbagai jenis senyawaan metabolit sekunder.

Metabolit stres yang mungkin terdapat pada tanaman kentang adalah kelompok glikoalkaloid yang umumnya berasal dari stres nonspesifik dan kelompok terpenoid yang timbul akibat stres yang spesifik. Keberadaan kelompok glikoalkaloid pada umbi kentang biasanya dikaitkan dengan keamanan pangan konsumen. Kirk-Othmer, 1978, memberikan batas kandungan glikoalkaloid total sebanyak 20 mg/100 g umbi, untuk umbi yang layak dikonsumsi. Kandungan total glikoalkaloid umbi pada saat panen perlu bernilai rendah, karena senyawaan ini mudah meningkat kandungannya akibat pengaruh suhu.

Schreiber (1972) menyatakan bahwa alkaloid steroid yang ada pada tanaman kentang adalah: α , β -solanina, α , β-chaconina, α solanidina, tomatidenol, demmisidina, 5-β -solanidan, 3-α -ol dan solanidin bebas, sedangkan yang sering dikaitkan dengan metabolit stres adalah α -solanina dan α-chaconina. Stoessel *et al.* (1977) menyatakan bahwa tanaman kentang yang terinfeksi oleh *Phytophthora infestans* dapat menghasilkan senyawaan lubimin yang dapat disebut sebagai phytoalexin, sedangkan Vasyukova *et al.* (1977) menyatakan bahwa senyawaan rishitin bisa muncul sebagai phytoalexin akibat infeksi *Phytophthora infestans.* Berdasarkan pengelompokannya, kedua senyawa tersebut termasuk ke dalam terpenoid yaitu sesquiterpena.

Struktur kimia senyawaan stress yang mungkin:

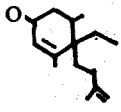
Glikoalkaloid :



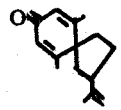
I Gugus R = Galaktosa — Rhamnosa / Glukosa = solanina

II Gugus R = Glukosa — Rhamnosa / Rhamnosa = chaconina

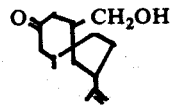
Sesquiterpena :



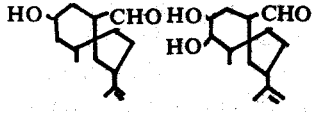
KATAHDINONA



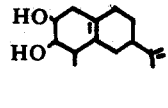
DEHYDROKATAHDINA



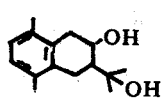
ISOLUBIMINA



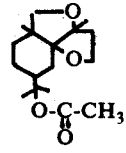
LUBIMINA OXYLUBIMINA



RISHITINA



RISHITINOL



PHYTUBERINA

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kemungkinan timbulnya jenis senyawaan stress yang diakibatkan oleh kombinasi faktor tumbuh yang toleran dan faktor tumbuh yang tidak toleran, mengidentifikasi senyawa metabolit stress dan mengevaluasi kemungkinan metabolit stress yang timbul sebagai senyawaan phytoalexin.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini terdiri atas percobaan lapangan dan analisis laboratorium. Analisis laboratorium dilakukan di Laboratorium Jurusan Kimia FMIPA IPB, sedangkan percobaan lapangan di Kebun Percobaan IPB Pasir Sarongge.

Percobaan Lapangan

Varietas kentang yang ditanam adalah varietas Cipanas yang diperoleh dari Kebun Percobaan Pasir Sarongge. Bibit kentang ditanam pada guludan berukuran 2 m × 4 m, dengan menggunakan tanah yang sudah disterilisasi dan setiap guludan ditanami 8 tanaman. Analisis tanah sebelum percobaan menunjukkan pH tanah setelah disterilisasi = 5.70, sedangkan pH H_2O air siraman yang diamati setiap minggu berkisar dari 7.45 sampai 8.05.

Pupuk dasar yang diberikan yaitu urea, TSP dan KCl masing-masing setara dengan 3.68 g N, 5.76 g P_2O_5 dan 4.5 g K_2O, per tanaman. Pupuk TSP dan KCl diberikan pada saat tanam seluruhnya, sedangkan urea diberikan dua kali yaitu saat tanam (4.0 gram) dan satu bulan setelah tanam (4.0 gram).

Perlakuan yang diberikan adalah pemberian air siraman dengan (a) pH 2.5 - 3 (W_1), 4.5 - 5 (W_2) dan air biasa (W_0). Pengaturan pH air dilakukan dengan menambahkan asam cuka pekat kedalam stock air siraman. Tingkat volume air yang diberikan adalah 100 ml/hari (P_1) dan 50 ml/hari (P_2). pH H_2O tanah yang diukur satu bulan setelah perlakuan menunjukkan untuk W_1 : 4.60 - 5.20, W_2 : 5.10 - 5.70 dan W_0 : 6.10 - 6.70. Untuk kepentingan pengambilan contoh analisis laboratorium, penempatan tanaman di lapangan menggunakan rancangan percobaan acak kelompok dengan tiga ulangan.

Pengamatan yang dilakukan sebagai alat bantu melihat terjadinya stres adalah mengamati keadaan umum pertumbuhan tanaman dan produksi umbi.

Pengambilan contoh untuk analisis dilakukan dengan cara menggabungkan umbi hasil panen dari perlakuan yang sama, dikeringbekukan, diblender, kemudian dicampurkan. Setelah tercampur rata, baru diambil sejumlah gram yang dibutuhkan sesuai dengan prosedur yang digunakan.

Analisis Laboratorium

Umbi hasil percobaan dianalisis dengan peubah-peubah: (a) komposisi proksimat dan komposisi asam amino untuk membantu melihat adanya pengaruh stres, (b) identifikasi metabolit stres yaitu komposisi glikoalkaloid dan terpenoid.

Analisis komposisi proksimat menggunakan prosedur dari AOAC (1970). Penentuan komposisi asam amino dilakukan dengan hidrolisis protein oleh HCl 6 N dan penetapan menggunakan alat "amino acid analyzer" yaitu Jeol Acid Analyzer. Penentuan glikoalkaloid menggunakan metode Bushway *et al.* (1979) yang dimodifikasi dengan menggunakan alat khromatografi kinerja tinggi, sedangkan terpenoid menggunakan metode Harbonne (1984) untuk penetapan sesquiterpena lactona.

Penentuan glikoalkaloid dilakukan dengan cara menimbang 10.0 g bahan kering ditambah pelarut tetra-hidrofuran, air, asetonitril dalam perbandingan 50 : 30 : 20 disaring, dikeringkan, ditambah NH_4OH sehingga pH mencapai 10.5. Endapan yang terkumpul ditambah air dan asetonitril dalam perbandingan 80 : 15, saring dan injeksikan sebanyak 20 ul kedalam alat. Penentuan terpenoid dilakukan dengan cara menimbang 20.0 g contoh lalu ditambah 100 ml kloroform, diblender, dipekatkan, dan dilarutkan dalam 25.0 ml etanol 95%, kemudian ditambah 25.0 ml timbal asetat 4%, disaring dan pekatkan, lalu diidentifikasi dengan khromatografi lapis tipis (KLT) dengan eluen benzena-metanol (9 : 1) dan pengukuran serapan maksimal dengan spektroskopi "UV-Visible". Kedua metode tersebut dipilih setelah diuji sebelumnya pada analisis pendahuluan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan Lapang

Pengamatan yang dilakukan di lapang yaitu jumlah tunas bawah dan produksi umbi. Hasil pengamatan pada tanaman keseluruhan menunjukkan pertumbuhan fisiologis normal, kecuali pada kelompok tanaman dengan air biasa. Pada kelompok tersebut pemberian air biasa dari kedua tingkat volume menghasilkan produksi umbi paling rendah yaitu rata-rata: 154.6 dan 158.4 g. Tanaman menghasilkan pertumbuhan dengan tunas bawah berkisar antara 3 sampai 6 tunas per tanaman. Produksi umbi rata-rata menunjukkan hasil berkisar dari 154.5 g/tanaman sampai 301.0 g/tanaman. Data produksi umbi dapat dilihat pada Tabel 1. Dari hasil percobaan diduga bahwa kedua perlakuan yang diberikan dapat menyebabkan pH tanah yang lebih baik, yang ditunjukkan oleh nilai pH H_2O tanah setelah percobaan selesai, berturut-turut menunjukkan kisaran pH untuk W_1 (4.90 - 5.60), W_2 (5.25 - 5.90), dan W_0 (6.70 - 7.10). Menurut Thomson dan Kelly, 1957 pH optimal untuk tanaman kentang berkisar dari 5.50 - 6.50.

Tabel 1. Produksi rata-rata Umbi Kentang (g/tanaman).
Table 1. Average yield of potato tubers (g/plant).

Perlakuan **Treatment**	g/tanaman **g/plant**	Perlakuan **Treatment**	g/tanaman **g/plant**
P_1W_1	301.0	P_2W_1	233.1
P_1W_2	225.6	P_2W_2	266.5
P_1W_0	154.6	P_2W_0	158.4

Analisis Laboratorium

Analisis susunan bahan kimia umbi kentang dapat dilihat pada Tabel 2. Dari hasil analisis dapat dilihat, bahwa kadar umbi kentang hasil percobaan terdapat dalam kisaran normal kecuali untuk kadar karbohidrat. Kadar karbohidrat umbi kentang normal, berkisar dari 17.0 - 25.0%, rendahnya kadar karbohidrat diduga disebabkan akibat adanya gangguan pada saat sintesis karbohidrat umbi tersebut.

Tabel 2. Susunan Kimia Umbi Kentang (dalam 100.0 g).
Table 2. Chemical Composition of Potato Tubers (in 100.0 g).

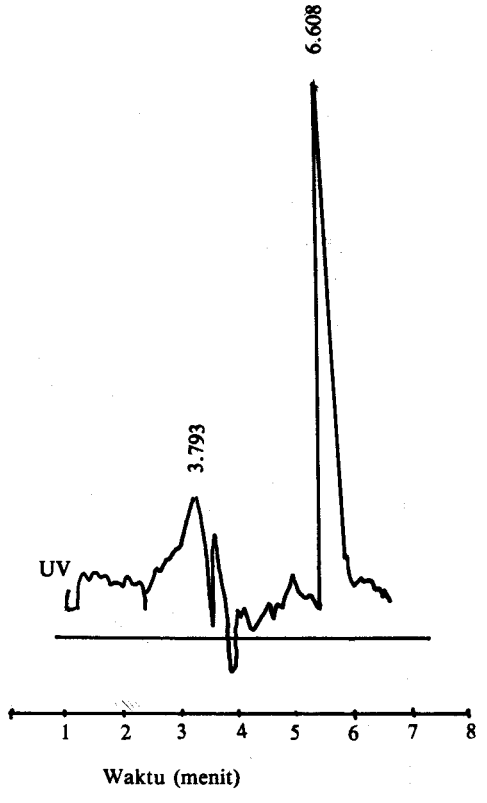
Parameter		
Kadar air	(%)	78.83 - 85.24
Protein	(%)	2.09 - 2.93
Lemak	(%)	0.14 - 0.77
Karbohidrat	(%)	13.55 - 19.51

Analisis parameter komposisi asam amino dilakukan untuk melihat kecenderungan pola perubahan aminogram akibat perlakuan stres. Data hasil analisis tertera pada Tabel 3. Dari data tersebut dapat dilihat bahwa pada varietas Cipanas perlakuan penyiraman air 50 ml/hari dengan pH 4.5 - 5.0 memberikan hasil % asam amino tertinggi (29.55%) dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pengaruh stres pada aminogram yang diharapkan dapat dicirikan oleh asam amino prolin tidak terlihat. Selain itu pengaruh stres terhadap komposisi asam amino tidak menunjukkan pola aminogram yang khas.

Tabel 3. Komposisi Asam Amino dari Ekstrak Umbi Kentang Varietas Cipanas.
Table 3. Amino Acid Composition of Potato Tuber Extract Variety of Cipanas.

Asam Amino **Amino Acids**	Perlakuan **Treatment**					
	P_1W_0	P_2W_0	P_1W_1	P_2W_1	P_1W_2	P_2W_2
	%					
Lisin	0.52	0.50	1.02	1.22	0.75	1.30
Histidin	0.22	0.45	0.50	0.50	0.30	0.60
Arginin	0.87	1.22	1.40	1.68	1.10	2.01
Asam-Aspartat	2.89	5.94	6.32	7.32	4.30	9.40
Threonin	0.40	0.60	0.62	0.72	0.52	1.05
Serin	0.38	0.57	0.67	0.70	0.43	2.10
Asam Glutamat	1.70	2.68	2.24	3.20	1.82	3.44
Prolin	0.16	0.33	0.46	0.39	0.29	0.62
Glysin	0.32	0.24	0.50	0.59	0.37	0.70
Alanin	0.34	0.56	0.52	0.63	0.46	0.78
Valin	0.62	0.89	1.10	1.22	0.58	1.72
Methionin	0.14	0.17	0.20	0.12	0.18	0.43
Isoleusin	0.47	0.74	0.89	0.99	0.54	1.22
Leusin	0.30	1.05	1.02	1.46	0.81	1.70
Tyrosin	0.21	0.48	0.51	0.48	0.37	0.68
Phenil	0.54	0.89	0.92	1.27	0.50	1.48
Alanin	—	—	—	—	—	—
Cystein	—	—	0.06	—	0.04	0.32
Total	10.08	17.31	18.95	22.49	13.36	29.55

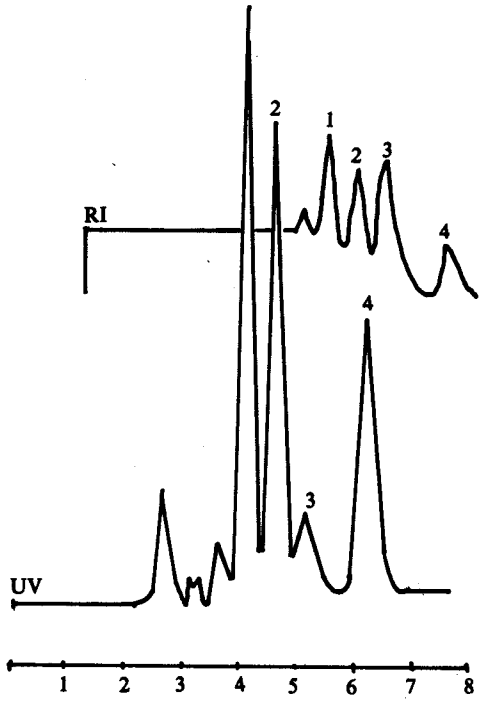
Analisis kuantitatif senyawaan glikoalkaloid hanya dapat dilakukan untuk α -Solanina, untuk senyawa glikoalkaloid lainnya tidak bisa dilakukan karena tidak diperoleh bahan kimia standar. Senyawa lainnya ditentukan secara kualitatif, melalui perbandingan waktu retensi dengan khromatogram hasil penelitian Bushway (1979). Khromatogram α -solanina standar tertera pada Gambar 1.a, sedangkan khromatogram standar hasil penelitian Bushway (1979) tertera pada Gambar 1.b.



Gambar 1.a. Khromatogram standar α -Solanina pada kolom C_{18}-NH_2, sistem pelarut tetrahidrofuran : air : asetonitril 50 : 30 : 20, laju aliran 1.0 ml/menit, panjang gelombang: 229 nm. Detektor UV.

Figure 1.a. Chromatogram of α -Solanine standard on column C_{18}-NH_2, solvent system tetrahidrofuran : water : asetonitril : 50 : 30 : 20, flow rate 1.0 ml/min, wavelength 229 nm. UV Detector.

Dari khromatogram diperoleh 6-8 puncak yang muncul dengan waktu retensi antara 3 sampai 8 menit. Waktu retensi merupakan pengukur kualitatif jenis senyawa, senyawa yang sama akan mempunyai waktu retensi yang sama. Jenis dan kadar senyawa hanya bisa diketahui bila ada senyawa standar, yaitu dengan membandingkan waktu retensinya dan luas area puncak.



Gambar 1.b. Khromatogram campuran glikoalkaloid pada kolom u Bondapak NH_2, sistem pelarut tetrahidrofuran : air : asetonitril : 50 : 25 : 25, laju aliran 1.0 ml/menit, panjang gelombang 208 nm. Detektor UV dan Indeks Refraksi.

Figure 1.b. Chromatogram of a mixture of glycoalcaloids on a u Bondapak NH_2 column, solvent system, tetrahidrofuran : water : asetonitril 50 : 25 : 25, flow rate 1.0 ml/minute, wavelength 208 nm. UV and Refraction Index Detectors.

Tabel 4. Waktu Retensi Analisis Glikoalkaloid dari Ekstrak Umbi Kentang.
Table 4. Retension Time of Glycoalcaloid Analyses of Potato Tuber.

Waktu retensi	Perlakuan Treatment					
	P_1W_0	P_2W_0	P_1W_1	P_2W_1	P_1W_2	P_2W_2
1. 3.02 - 3.048	*	*	*	*	*	*
2. 3.67 - 3.70	—	*	*	*	*	*
3. 4.27 - 4.28	*	*	*	*	*	*
4. 4.87 - 4.90	*	*	*	*	*	*
5. 5.36 - 5.38	*	*	*	*	*	*
6. 6.10 - 6.12	—	—	*	—	*	*
7. 6.48 - 6.60 (Solanina)	*	*	*	*	*	*
8. 7.47 - 8.28	*	*	*	*	*	*

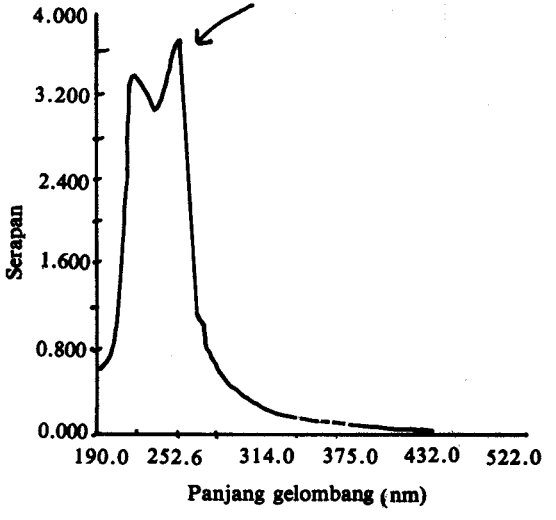
* Puncak muncul, – tidak ada puncak.

Dengan membandingkan secara kualitatif terhadap kurva dari Bushway diperoleh adanya α atau β chaconina pada semua perlakuan, sedangkan puncak-puncak lainnya tidak bisa diperbandingkan. Makin banyak jumlah puncak makin banyak pula jenis senyawaan glikoalkaloid yang ada pada ekstrak tersebut. Derajat stress yang diukur berdasarkan jumlah (g) total senyawa glikoalkaloid tidak bisa ditentukan karena puncak-kurva selain α -solanina tidak bisa ditentukan secara kuantitatif. Hasil analisis α -solanina pada ekstrak umbi kentang berkisar dari 30 mg/100 g umbi pada perlakuan (P_2W_2) sampai 98 mg/100 g umbi pada perlakuan P_1W_0. Data kadar α -solanina hasil percobaan tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Kadar α -solanina ekstrak Umbi Kentang.
Table 5. α -Solanine Content of Potato Tubers.

	mg/100 g		mg/100 g
P_1W_0	98	P_2W_0	92
P_1W_1	30	P_2W_1	42
P_1W_2	30	P_2W_2	38

Dari data di atas diperoleh bahwa penyiraman air biasa pada kedua tingkat volume memberikan kadar α -solanina tertinggi. Semua perlakuan menghasilkan kadar α -solanina >20.0 mg/100 g, sehingga umbi yang dihasilkan tidak baik untuk dikonsumsi.



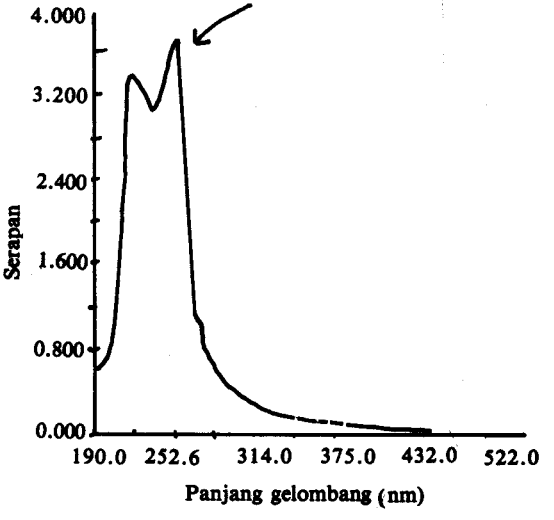
Gambar 2. Serapan maksimum Ekstrak Umbi Kentang Hasil Percobaan.
Figure 2. Maximum absorption of potato tubers extracts.

Dengan membandingkan secara kualitatif terhadap kurva dari Bushway diperoleh adanya α atau β chaconina pada semua perlakuan, sedangkan puncak-puncak lainnya tidak bisa diperbandingkan. Makin banyak jumlah puncak makin banyak pula jenis senyawaan glikoalkaloid yang ada pada ekstrak tersebut. Derajat stress yang diukur berdasarkan jumlah (g) total senyawa glikoalkaloid tidak bisa ditentukan karena puncak-kurva selain α -solanina tidak bisa ditentukan secara kuantitatif. Hasil analisis α -solanina pada ekstrak umbi kentang berkisar dari 30 mg/100 g umbi pada perlakuan (P_2W_2) sampai 98 mg/100 g umbi pada perlakuan P_1W_0. Data kadar α -solanina hasil percobaan tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Kadar α -solanina ekstrak Umbi Kentang.
Table 5. α -Solanine Content of Potato Tubers.

	mg/100 g		mg/100 g
P_1W_0	98	P_2W_0	92
P_1W_1	30	P_2W_1	42
P_1W_2	30	P_2W_2	38

Dari data di atas diperoleh bahwa penyiraman air biasa pada kedua tingkat volume memberikan kadar α -solanina tertinggi. Semua perlakuan menghasilkan kadar α -solanina $>$20.0 mg/100 g, sehingga umbi yang dihasilkan tidak baik untuk dikonsumsi.



Gambar 2. Serapan maksimum Ekstrak Umbi Kentang Hasil Percobaan.
Figure 2. Maximum absorption of potato tubers extracts.

Identifikasi senyawa sesquiterpenoid dilakukan dengan melihat hasil scanning absorbansi ekstrak umbi dengan menggunakan spektroskopi "UV-Visible". Dari hasil scanning dapat ditunjukkan adanya satu komponen pada daerah serapan maksimal pada kisaran panjang gelombang 250 - 256 nm pada spektrofotometri UV-VIS, (Gambar 2). Senyawa yang mungkin ada berasal dari golongan sesquiterpena laktona yang memiliki tiga ikatan ganda atau memiliki heteroatom. Dengan tidak diperolehnya jenis senyawaan sesquiterpenoid maka evaluasi phytoalexin tidak bisa dilakukan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini diperoleh:

1. Pertanaman kentang secara fisiologis tidak menunjukkan gejala stres yang dapat diamati.
2. Terdapat pola aminogram yang berbeda sebagai hasil dari perlakuan stres, tetapi perbedaan pola aminogram tidak khas. Persentase komposisi asam amino terbesar diperoleh pada pH air siraman 4 - 4.5 dengan volume 50 ml/hari.
3. Kadar α -solanina ekstrak umbi berkisar dari 30 mg - 98 mg/100 g umbi. Senyawa glikoalkaloid yang terdapat pada ekstrak umbi berkisar dari 6 - 8 senyawa, yang ditunjukkan oleh jumlah puncak kurva yang muncul. Puncak kurva yang dapat diidentifikasi secara kualitatif adalah α dan β -chaconina.
4. Metabolit stres dari kelompok sesquiterpenoid yang bisa diidentifikasi adalah senyawaan sesquiterpena lactona dengan serapan maksimum (λ maks) 250 - 256 nm dan diduga mempunyai tiga ikatan ganda atau mempunyai heteroatom.
5. Evaluasi senyawaan phytoalexin belum bisa dilakukan.

SARAN

- Melakukan percobaan dengan tingkat stres yang lebih tinggi untuk melihat pengaruh lebih jelas.
- Melakukan pemurnian terhadap ekstrak sesquiterpenoid agar dapat dilakukan evaluasi phytoalexin.