

Pengujian Stabilitas Membran Sel dan Kandungan Klorofil untuk Evaluasi Toleransi Suhu Tinggi pada Tanaman Kentang (Cell Membrane Stability Assay and Chlorophyll Content Measurement to Evaluate Heat Stress Tolerance on Potato)

Handayani, T¹⁾, Basunanda, P²⁾, Murti, HR²⁾, dan Sofari, E¹⁾

¹⁾Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Jl. Tangkuban Parahu No. 517, Lembang, Bandung Barat 40391

²⁾Program Pascasarjana Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora, Bulaksumur, Yogyakarta 55281

E-mail: trihandayani3@yahoo.com

Naskah diterima tanggal 10 Desember 2012 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 18 Februari 2013

ABSTRAK. Cekaman suhu tinggi memengaruhi proses fisiologis tanaman dan stabilitas membran sel. Penelitian dilakukan untuk mengevaluasi sifat toleran terhadap cekaman suhu tinggi pada kentang dengan menguji stabilitas membran sel dan kandungan klorofil. Pengujian terhadap 13 varietas dan tujuh klon kentang dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Laboratorium Fisiologi Tanaman, Balai Penelitian Tanaman Sayuran dari Bulan April sampai Juli 2012. Uji stabilitas membran sel dilakukan melalui pengukuran pelepasan elektrolit akibat kerusakan membran sel oleh suhu tinggi, sedangkan kandungan klorofil diukur menggunakan metode spektrofotometri. Pengujian menggunakan rancangan acak lengkap dengan dua kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa varietas Cipanas, serta klon CIP 390663.8, CIP 392781.1, CIP 394613.139, dan CIP 395195.7 (planlet dan tanaman di rumah kaca), Merbabu 17 (planlet), serta klon CIP 394614.117 dan varietas Ping 06 (tanaman di rumah kaca) mengalami kerusakan membran sel di bawah 40%. Cekaman suhu tinggi juga menyebabkan penurunan kandungan klorofil. Penurunan total klorofil yang tinggi (60,20–69,15%) terjadi pada varietas Erika, Manohara, Margahayu, Repita, dan Tenggo, serta klon N.1. Klon CIP 395195.7 dan varietas Ping 06 memiliki kandungan total klorofil yang tinggi pada kondisi suhu tinggi, dengan penurunan total klorofil akibat suhu tinggi yang kecil. Genotip-genotip yang memiliki persentase kerusakan membran sel kecil, kandungan total klorofil yang tinggi, dan penurunan kandungan klorofil yang kecil, diduga memiliki sifat toleran terhadap cekaman suhu tinggi.

Katakunci: Klorofil; *Solanum tuberosum*; Stabilitas membran sel; Suhu tinggi

ABSTRACT. Heat stress affects plant physiological processes and cell membrane stability. Study was conducted to evaluate the properties of heat stress tolerance on potato, by testing the cell membrane stability and chlorophyll content. Tests on 13 varieties and seven clones were done in Tissue Culture Laboratory and Plant Physiology Laboratory, Indonesian Vegetable Research Institute in April to July 2012. Cell membrane stability assay was carried by measuring the electrolyte leakage through damaged cell membrane caused by high temperatures, whereas chlorophyll content was measured by spectrophotometry method. This test used randomized completely design with two replications. Results showed that var. Cipanas, and clone of CIP 390663.8, CIP 392781.1, CIP 394613.139, and CIP 395195.7 (leaf of plantlets and leaf of plants in the greenhouse), Merbabu 17 (leaf of plantlet), and CIP 394614.117 and Ping 06 (leaf of plants in the greenhouse) have cell membrane injury <40%. Heat stress caused chlorophyll content decreased. High chlorophyll decrease occurred in var. Erika, Manohara, Margahayu, Repita, and Tenggo, and clone of N.1. Clone of CIP 395195.7 and var. Ping 06 have high content of total chlorophyll in high temperature conditions, with less decrease in total chlorophyll content due to high temperatures. The genotypes with indication of low percentage of cell membrane injury, high content of total chlorophyll and less decrease in total chlorophyll content were most probably tolerance to heat stress.

Keywords: Chlorophyll; *Solanum tuberosum*; Cell membrane stability; Heat stress

Cekaman suhu tinggi merupakan salah satu cekaman lingkungan abiotik yang mengakibatkan penurunan produksi dan produktivitas tanaman. Tanaman mengalami cekaman suhu tinggi apabila kondisi suhu yang diterima melebihi suhu optimum yang dibutuhkan tanaman tersebut (Kotak *et al.* 2007). Levitt (1972) dan Wahid *et al.* (2007) menyebutkan bahwa cekaman suhu tinggi pada tanaman secara umum berpengaruh terhadap proses fisiologis, seperti fotosintesis, respirasi, kandungan air, dan stabilitas membran. Tanaman kentang termasuk salah satu jenis tanaman yang sensitif terhadap suhu tinggi. Suhu optimum untuk pertumbuhan dan pembentukan umbi pada tanaman kentang ialah 18–20°C (Ewing

1985). Peningkatan suhu yang terjadi di sentra-sentra produksi kentang akibat pemanasan global diduga berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produktivitas tanaman kentang. Oleh karena itu, untuk mengatasi permasalahan suhu tinggi, terutama dalam rangka pengembangan kentang di dataran medium dan rendah di wilayah tropis, diperlukan varietas kentang yang toleran terhadap suhu tinggi.

Cekaman suhu tinggi merusak membran sel dengan cara mengubah komposisi dan struktur kimia membran. Identifikasi dan skrining toleransi tanaman terhadap berbagai cekaman abiotik, termasuk suhu tinggi, berdasarkan stabilitas membran sel dengan indikator kebocoran elektrolit (*electrolyte leakage*

BAHAN DAN METODE

bioassay) telah dilakukan pada berbagai komoditas (Alsadon *et al.* 2006, Arvin & Donnelly 2008, Collado *et al.* 2010, Syarifi *et al.* 2012). Suhu tinggi menyebabkan rusaknya jaringan daun tanaman, sehingga permeabilitas membran sel meningkat dan akibatnya elektrolit sel menyebar ke luar (ke larutan perendam). Jumlah elektrolit yang terlepas dari sel yang rusak dapat dievaluasi melalui pengukuran penghantaran elektrik larutan perendam.

Salah satu proses fisiologis yang sangat sensitif terhadap suhu tinggi ialah fotosintesis. Cekaman suhu tinggi menyebabkan penurunan kandungan total klorofil daun pada mentimun, gandum, dan *creeping bentgrass* akibat penurunan biosintesis klorofil (Tewari & Tripathy 1998, Liu & Huang 2000, Balouchi 2010). Penurunan kandungan klorofil daun menyebabkan penurunan laju fotosintesis pada tanaman kentang dan gandum (Aien *et al.* 2011, Almeselmani *et al.* 2012), sedangkan laju fotosintesis optimum tanaman kentang terjadi pada suhu 24°C (Timmlin *et al.* 2006).

Teknik pengujian stabilitas membran sel dan kandungan klorofil termasuk sederhana, cepat, dan murah, serta dapat diaplikasikan untuk seleksi dalam jumlah besar, sehingga mendukung percepatan perakitan varietas yang toleran cekaman abiotik, termasuk cekaman suhu tinggi. Pengujian stabilitas membran sel dapat dilakukan terhadap berbagai material tanam sebagai sumber sampel dan tidak bergantung pada musim maupun permasalahan lingkungan lainnya, karena perlakuan cekaman baru diberikan pada sampel setelah diambil dari material tanam (Arvin & Donnelly 2008). Klorofil merupakan pigmen fotosintesis di dalam kloroplas yang dihasilkan melalui serangkaian proses sintesis. Beberapa enzim berperan dalam sintesis klorofil tersebut namun aktivitas enzim-enzim tersebut dihambat oleh suhu tinggi (Tewari & Tripathy 1998). Oleh karena itu, pengukuran kandungan klorofil dapat digunakan untuk menentukan toleransi suatu genotip terhadap suhu tinggi (Balouchi 2010, Rana *et al.* 2011, Almeselmani *et al.* 2012).

Tujuan penelitian ialah mengetahui stabilitas membran sel dan kandungan klorofil daun 20 varietas dan klon kentang untuk keperluan evaluasi terhadap cekaman suhu tinggi. Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini ialah terdapat perbedaan stabilitas membran sel dan kandungan klorofil daun antar-varietas dan klon yang diuji. Dari penelitian ini diharapkan diperoleh informasi mengenai stabilitas membran sel dan kandungan klorofil tanaman kentang yang dapat dihubungkan dengan sifat toleran terhadap suhu tinggi untuk mendukung program pemuliaan tanaman kentang.

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada Bulan April sampai Juli 2012 di Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Lembang, Bandung. Perbanyakan dan kultur planlet dikerjakan di laboratorium kultur jaringan, sedangkan stek batang dilakukan di rumah kaca. Pengujian kandungan klorofil dilakukan di laboratorium fisiologi tanaman, dan pengujian stabilitas membran dilakukan di laboratorium kultur jaringan.

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan ialah planlet (tanaman *in vitro*) dan tanaman yang berasal dari stek batang dari 20 genotip kentang yang terdiri atas 13 varietas (Amudra, Atlantik M, Cipanas, Erika, GM 05, GM 08, Granola, Manohara, Margahayu, Merbabu 17, Ping 06, Repita, dan Tenggo) dan tujuh klon (CIP 390663.8, CIP 392781.1, CIP 394613.139, CIP 394614.117, CIP 395195.7, N.1, dan P1.2). Lima klon dengan kode depan CIP merupakan introduksi dari International Potato Center (CIP).

Perbanyakan Bahan Penelitian

Planlet diperbanyak menggunakan stek buku tunggal, yang ditanam di dalam botol berisi media MS (Murashige & Skoog 1962) dengan 40 g/l gula, 8 g/l agar, dan pH 5,8. Setiap botol berisi 10 planlet. Botol planlet ditempatkan di dalam *tissue culture cabinet* pada kondisi normal (suhu 20°C) dan kondisi tercekam (suhu 27°C) dengan pencahayaan 2500 lux. Selain itu, planlet masing-masing genotip diaklimatisasi di rumah kaca dan ditanam pada media steril berupa campuran pupuk kandang dan arang sekam dengan perbandingan 1 : 1 (v : v). Setelah 2 minggu, stek pucuk batang dipanen untuk perbanyakan dan ditanam di dalam bak perbanyakan dengan media yang sama untuk penanaman planlet.

Pengujian Stabilitas Membran

Materi pengujian stabilitas membran sel berupa daun planlet yang ditumbuhkan pada kondisi suhu normal dan daun tanaman hasil stek batang di rumah kaca, sampel daun planlet diambil dari bagian tengah planlet, sedangkan sampel dari tanaman di rumah kaca diambil dari daun yang berada di tengah batang menggunakan pelubang kertas. Metode pengujian mengikuti Arvin & Donnelly (2008). Sampel daun dicuci tiga kali dengan akuades, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Perlakuan suhu tinggi dilakukan dengan cara menempatkan tabung di dalam *water bath* dengan suhu 37°C selama 4 jam, dan untuk kontrol, tabung diletakkan pada suhu ruangan. Setelah

4 jam, ke dalam tabung ditambahkan air destilasi 15 ml dan disimpan pada suhu 10°C selama 24 jam, kemudian dilakukan pengukuran konduktivitas pada suhu ruang (25°C). Tabung di-autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C, dan dilakukan pengukuran konduktivitas pada suhu 25°C. Persentase kerusakan relatif dihitung dengan rumus:

$$\text{di mana:} = \frac{1-T1/T2}{1-C1/C2} \times 100\%$$

T1 = Konduktivitas perlakuan sebelum di-autoklaf,
 T2 = Konduktivitas perlakuan setelah di-autoklaf,
 C1 = Konduktivitas kontrol sebelum di-autoklaf,
 C2 = Konduktivitas kontrol setelah di-autoklaf (Sullivan & Ross 1979).

Pengujian Kandungan Klorofil

Pengujian kandungan klorofil dilakukan pada daun planlet yang ditumbuhkan pada suhu 20°C dan 27°C, mengikuti metode Arnon (1949). Sampel daun ditimbang berat basahnya (BB) dan dihaluskan, kemudian dilarutkan dengan aseton 80% di dalam labu ukur sampai volume larutan 25 ml. Larutan disimpan di tempat gelap selama 12 jam. Absorban larutan diukur dengan spektrofotometer Genesys 10S Bio pada panjang gelombang (λ) 663 nm dan 645 nm. Konsentrasi klorofil dalam satuan m/g BB dihitung dengan rumus:

1. Klorofil a (Kl a) = (12,7A₆₆₃ - 2,69A₆₄₅) x V/BB sampel daun,
2. Klorofil b (Kl b) = (22,9A₆₄₅ - 4,68A₆₆₃) x V/BB sampel daun,
3. Total klorofil (Kl a + b) = (20,21A₆₄₅ + 8,02A₆₆₃) x V/BB sampel daun.

di mana :

A₆₆₃ = Absorban pada panjang gelombang 663 nm,

A₆₄₅ = Absorban pada panjang gelombang 645 nm,

V = volume larutan (ml),

BB = berat segar sampel (mg).

Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Pengujian menggunakan rancangan acak lengkap dengan dua kali ulangan. Data intensitas kerusakan membran sel, kandungan klorofil a, klorofil b, dan total klorofil dianalisis ragam dan uji beda nyata DMRT pada taraf 5% menggunakan program ASSISTAT 7.6.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Stabilitas membran sel pada suhu tinggi diukur melalui banyaknya pelepasan elektrolit dari dalam

membran sel yang dinyatakan dalam persentase kerusakan membran sel. Terdapat perbedaan yang nyata pada persentase kerusakan membran sel daun tanaman di rumah kaca antarperlakuan genotip (Tabel 1). Pengujian yang dilakukan pada daun tanaman di rumah kaca menunjukkan lima klon introduksi dari CIP memiliki persentase kerusakan membran di bawah 40%. Selain itu, varietas Cipanas dan Ping 06 juga memiliki persentase kerusakan rendah (masing-masing 29,92 dan 39,75%). Pada pengujian daun planlet, klon CIP 394194.117 dan varietas Ping 06 mengalami kerusakan di atas 40%. Namun, varietas Merbabu 17 yang pada pengujian daun tanaman hasil

Tabel 1. Kebocoran elektrolit (persentase kerusakan) akibat suhu tinggi pada daun planlet dan tanaman di rumah kaca (*Electrolyte leakage (percentage of injury) of leaf plantlets and leaf plants in screenhouse*)

Varietas/klon (Varieties/clones)	Kebocoran elektrolit (Electrolyte leakage), %	
	Planlet (Plantlet)	Tanaman di rumah kasa (Plant in the screenhouse)
Amudra	71,53	57,66 ab
Atlantik M	72,55	62,82 ab
Cipanas	38,59	29,92 cd
CIP 390663.8	35,73	22,51 e
CIP 392781.1	39,84	36,56 bc
CIP 394613.139	38,84	24,60 de
CIP 394614.117	42,28	38,17 bc
CIP 395195.7	37,72	34,54 bc
Erika	67,09	58,83 ab
GM 05	67,75	43,27 bc
GM 08	73,60	67,01 ab
Granola	47,75	45,14 ab
Manohara	63,37	78,39 a
Margahayu	49,50	51,92 ab
Merbabu 17	38,70	60,88 ab
N.1	49,49	58,45 ab
Ping 06	41,28	39,75 bc
P1.2	58,10	46,46 ab
Repita	55,12	49,22 ab
Tenggo	61,05	61,87 ab
Rerata umum (General average)	58,47	48,40
KK (CV), %	11,16	29,84

Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji duncan (*The mean followed by the same letter in the same column are not significantly different according to duncan multiple range test at level 5%*)

Tabel 2. Kandungan klorofil (mg/g bobot basah) pada suhu 20°C (*Chlorophyll content (mg/g fresh weight) at 20°C*)

Varietas/klon (<i>Varieties/clones</i>)	Klorofil a (<i>Chlorophyll a</i>)	Klorofil b (<i>Chlorophyll b</i>)	Total klorofil (<i>Total of chlorophyll</i>)	Rasio klorofil a:b (<i>Chlorophyll a:b ratio</i>)
Amudra	1,47 d	0,51	1,98 h	3,07
Atlantik M	1,85 cd	0,60	2,45 fg	3,18
Cipanas	2,21 bc	0,87	3,09 cd	2,84
CIP 390663.8	2,05 bc	0,90	2,96 de	2,52
CIP 392781.1	1,96 bc	0,85	2,81 ef	2,38
CIP 394613.139	2,26 bc	0,68	2,94 de	3,75
CIP 394614.117	1,45 d	0,79	2,24 gh	1,88
CIP 395195.7	2,64 ab	1,01	3,66 ab	2,82
Erika	1,39 d	0,45	1,85 h	3,09
GM 05	1,75 cd	0,67	2,43 fg	2,69
GM 08	1,48 d	0,50	1,98 h	3,07
Granola	1,74 cd	0,65	2,39 fg	2,69
Manohara	2,95 ab	1,25	4,20 ab	2,64
Margahayu	2,19 bc	0,77	2,96 de	2,83
Merbabu 17	2,13 bc	0,96	3,10 cd	3,50
N.1	3,29 a	1,15	4,44 a	2,85
Ping 06	2,90 ab	1,00	3,90 ab	2,89
P1.2	1,81 cd	1,06	2,87 de	1,71
Repita	2,56 ab	0,87	3,43 bc	3,72
Tenggo	2,54 ab	0,87	3,41 bc	3,08
Rerata umum (<i>General average</i>)	2,13	0,82	2,95	2,86
KK (CV), %	19,51	17,38	11,90	

stek persentase kerusakannya tinggi (60,88%), daun planletnya memiliki kerusakan membran 38,70%.

Intensitas kerusakan membran sel daun planlet tidak berbeda nyata antargenotip. Meskipun demikian, pada pengujian ini intensitas kerusakan membran sel daun planlet berkorelasi sangat kuat dan positif dengan intensitas kerusakan membran sel daun tanaman di rumah kaca ($r = 0,72$). Hal ini berarti hasil pengujian dari sampel daun planlet sejalan dengan hasil pengujian dari sampel tanaman di rumah kaca. Dengan demikian, pengujian stabilitas membran dapat dilakukan hanya pada salah satu jenis sampel tersebut (daun planlet atau daun tanaman di rumah kaca).

Genotip yang mengalami kerusakan membran sel yang rendah, relatif lebih toleran terhadap cekaman suhu tinggi daripada genotip dengan intensitas kerusakan sel yang lebih tinggi (Liu & Huang 2000, Arvin & Donnelly 2008). Menurut Rana *et al.* (2011), intensitas kerusakan membran sel < 40% dikategorikan ke dalam sifat toleran. Penyusun utama membran sel ialah fosfolipid dan protein, yang berfungsi tidak hanya melindungi sel dan organela-organela dalam sel, tetapi juga mendukung fungsi sel. Suhu tinggi menyebabkan

penurunan kekentalan membran lipid dan peningkatan denaturasi protein (Wahid *et al.* 2007). Akibatnya, permeabilitas membran sel meningkat dan fungsi seluler terganggu. Adapun genotip yang pada kondisi cekaman suhu tinggi memiliki persentase kerusakan yang rendah, berarti membran selnya relatif stabil, dan dapat melindungi fungsi seluler di dalamnya.

Hasil pengujian kandungan klorofil menunjukkan terdapat perbedaan kandungan klorofil a dan total klorofil daun antarvarietas/klon yang ditumbuhkan pada suhu normal (Tabel 2). Varietas Manohara dan Ping 06, serta klon N.1 dan CIP 395195.7 memiliki kandungan total klorofil tinggi. Kandungan klorofil a selalu lebih tinggi daripada klorofil b. Klorofil b hanya terdapat pada pigmen sistem antena penangkap cahaya, sedangkan klorofil a terdapat di dalam pusat reaksi fotosistem I dan II, juga dalam pigmen antena. Nisbah klorofil a dan klorofil b berkisar antara 1,71 (klon P1.2) dan 3,75 (klon CIP 394613.139). Penelitian Anzlovar *et al.* (1996) menunjukkan tiga varietas kentang (Desiree, Igor, dan Pentland Squire) pada kondisi pertumbuhan normal memiliki nisbah klorofil a : b berkisar 2,87 sampai 2,98.

Tabel 3. Kandungan klorofil (mg/g bobot basah) pada suhu 27°C (*Chlorophyll content (mg/g fresh weight) at 27°C*)

Varietas/klon (<i>Varieties/clones</i>)	Klorofil a (<i>Chlorophyll a</i>)	Klorofil b (<i>Chlorophyll b</i>)	Total klorofil (<i>Total of chlorophyll</i>)	Nisbah Kl a:b (<i>Chlorophyll a: b ratio</i>)
Amudra	0,77 fg	0,30 gh	1,07 hi	3,01
Atlantik M	0,89 ef	0,31 gh	1,20 gh	2,92
Cipanas	1,32 de	0,70 bc	2,02 ef	2,02
CIP 390663.8	1,67 bc	0,61 cd	2,28 cd	2,97
CIP 392781.1	2,07 ab	0,66 bc	2,73 bc	3,12
CIP 394613.139	2,15 ab	0,67 bc	2,82 bc	3,26
CIP 394614.117	0,81 ef	0,69 bc	1,50 fg	1,18
CIP 395195.7	2,37 a	0,93 ab	3,30 ab	2,62
Erika	0,54 h	0,17 i	0,71 j	3,86
GM 05	1,06 de	0,36 fg	1,42 fg	3,05
GM 08	1,40 de	0,45 cd	1,84 ef	3,25
Granola	1,48 cd	0,49 cd	1,97 ef	3,03
Manohara	1,21 de	0,46 cd	1,67 ef	2,63
Margahayu	0,65 gh	0,27 hi	0,91 ij	2,59
Merbabu 17	1,48 cd	0,56 cd	2,03 ef	2,78
N.1	1,35 de	0,40 de	1,75 ef	3,39
Ping 06	2,63 a	0,91 ab	3,54 a	2,90
P1.2	1,18 de	0,99 a	2,17 de	1,19
Repita	0,72 fg	0,39 ef	1,12 gh	2,01
Tenggo	0,87 ef	0,28 gh	1,14 gh	3,22
Rerata umum (<i>General average</i>)	1,33	0,53	1,86	2,75
KK (CV), %	21,57	21,86	14,63	

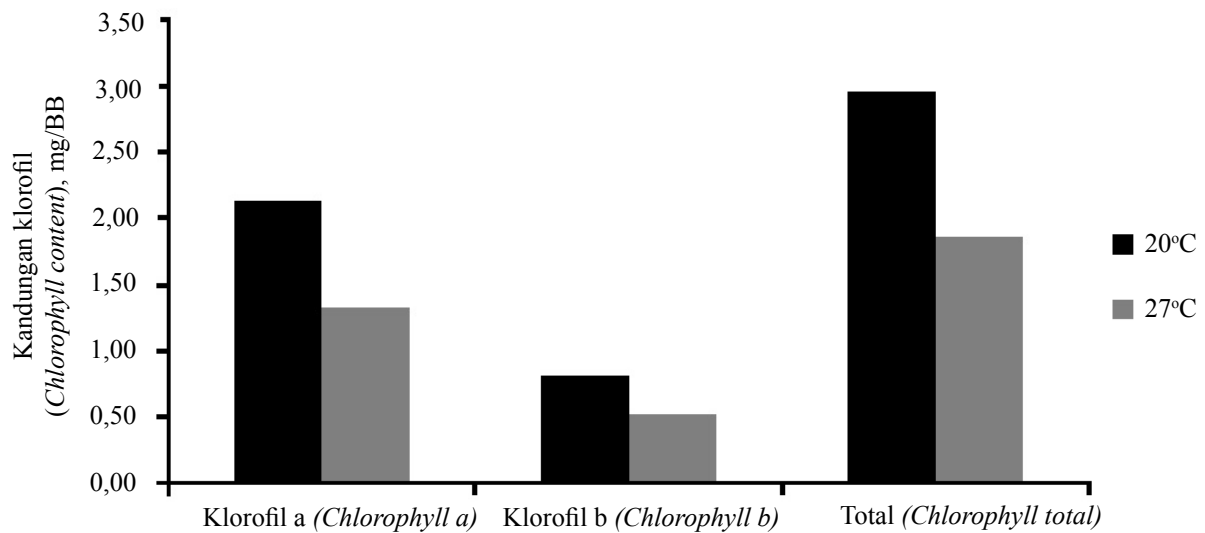
Kandungan klorofil a dan b, serta total klorofil pada kondisi suhu tinggi memperlihatkan keragaman dan perbedaan yang nyata antarvarietas/klon (Tabel 3). Jika pada kondisi suhu normal klon N.1 memiliki kandungan klorofil tertinggi (klorofil a dan total klorofil), maka pada kondisi suhu tinggi kandungan klorofil tertinggi terdapat pada klon CIP 395195.7 dan varietas Ping 06. Hal ini berhubungan dengan perbedaan perubahan kandungan klorofil tiap genotip. Perbedaan perubahan tersebut juga memengaruhi perubahan nisbah klorofil a dan b dengan kisaran yang lebih luas, yaitu antara 1,18 (klon CIP 394614.117) dan 3,86 (varietas Erika).

Dalam penelitian ini terlihat adanya peningkatan maupun penurunan nisbah klorofil a : b. Hal ini berhubungan dengan perubahan kandungan klorofil a dan b pada kondisi suhu tinggi. Penelitian Almeselmani *et al.* (2012) pada tanaman gandum memperlihatkan genotip yang toleran memiliki nisbah klorofil a : b berkisar 2 sampai 3. Menurut Rana *et al.* (2011), penurunan nisbah klorofil a : b akibat kondisi suhu tinggi merupakan salah satu indikator toleransi suatu genotip terhadap cekaman suhu tinggi. Hal ini perlu

dipelajari lebih lanjut, karena beberapa varietas dan klon yang mengalami penurunan nisbah klorofil a : b, justru mengalami kerusakan membran sel yang tinggi pada suhu tinggi, meskipun yang lainnya memiliki kerusakan membran sel yang rendah.

Secara umum, terdapat penurunan kandungan klorofil a dan b, serta klorofil total akibat perbedaan suhu dalam pertumbuhan planlet (Gambar 1). Hal serupa juga dilaporkan dalam penelitian terdahulu pada berbagai jenis komoditas (Tewari & Tripathy 1998, Liu & Huang 2000, Balouchi 2010).

Perubahan berupa peningkatan maupun penurunan kandungan klorofil terjadi pada tiap varietas dan klon pada kondisi suhu tinggi (Tabel 4). Penurunan kandungan klorofil (klorofil a, b, serta total klorofil) yang relatif besar terjadi pada varietas Erika, Manohara, Margahayu, Repita, dan Tenggo, serta klon N.1. Varietas dan klon yang mengalami penurunan kandungan klorofil relatif kecil ialah Cipanas, CIP 390663.8, CIP 392781.1, CIP 394613.139, CIP 394614.117, CIP 395195.7, GM 08, Granola, Merbabu 17, Ping 06, dan P1.2. Pada tanaman mentimun, terjadinya penurunan kandungan klorofil diakibatkan oleh penghambatan



Gb 1. Perubahan umum kandungan klorofil (*Changes of chlorophyll content*)

sintesis klorofil, yang mencapai 60% (Tewari & Tripathy 1998). Penghambatan sintesis klorofil ini menurut Tewari & Tripathy (1998) merupakan akibat dari terhambatnya sintesis dan aktivitas enzim-enzim yang berperan dalam sintesis klorofil (*5-aminolevulinic acid dehydratase and porphobilinogen deaminase*) oleh suhu tinggi.

Pada pengujian ini, varietas Ping 06 dan klon CIP 395195.7 memiliki kandungan total klorofil yang tinggi pada kondisi suhu tinggi, dengan penurunan total klorofil yang relatif lebih rendah daripada varietas dan klon yang lain. Genotip dengan kandungan klorofil tinggi dan tingkat penurunan klorofil yang rendah pada suhu tinggi mengindikasikan bahwa

Tabel 4. Penurunan kandungan klorofil akibat suhu tinggi (*Decrease of chlorophyll content due to high temperature*)

Varietas/klon (Varieties/clones)	Klorofil a (Chlorophyll a)	Klorofil b (Chlorophyll b)	Total klorofil (Total of Chlorophyll)	Nisbah klorofil a : b (Chlorophyll a : b ratio)
Amudra	47,42	42,26	46,09	65,18
Atlantik M	51,85	48,06	50,92	62,15
Cipanas	40,54	19,78	34,67	28,97
CIP 390663.8	18,60	32,47	22,84	9,32
CIP 392781.1	-5,46	22,52	3,03	-14,35
CIP 394613.139	5,27	0,59	4,19	24,80
CIP 394614.117	44,41	12,71	33,22	20,51
CIP 395195.7	10,19	8,71	9,78	-17,22
Erika	61,31	61,88	61,45	76,93
GM 05	39,46	46,91	41,52	47,19
GM 08	5,72	11,05	7,07	39,91
Granola	14,86	24,81	17,56	26,88
Manohara	58,97	63,08	60,20	36,56
Margahayu	70,39	65,62	69,15	67,73
Merbabu 17	30,74	42,25	34,32	41,94
N.1	58,97	65,39	60,63	38,72
Ping 06	9,38	9,09	9,31	-22,40
P1.2	34,87	6,45	24,37	-27,28
Repita	71,77	54,70	67,44	69,97
Tenggo	65,85	68,03	66,41	62,85
Rerata umum (General average)	37,61	35,60	37,05	34,96

tanaman tersebut toleran terhadap cekaman suhu tinggi (Reynolds *et al.* 1990, Efeoglu & Terzioglu 2009). Adapun Almeselmani *et al.* (2012) menyebutkan bahwa toleransi terhadap suhu tinggi ditandai dengan rendahnya penurunan yang terjadi pada kandungan klorofil, total klorofil, dan nisbah klorofil a : b. Reynolds *et al.* (1990) menyebutkan bahwa kehilangan klorofil yang besar dan berkurangnya laju pengikatan CO₂ pada genotip kentang yang sensitif suhu tinggi menyebabkan penurunan proses fotosintesis dan pertumbuhan tajuk tanaman.

Dalam penelitian ini, pengujian stabilitas membran dan kandungan klorofil pada kondisi suhu tinggi memperlihatkan perbedaan antargenotip kentang yang diuji. Meskipun demikian, pengujian lanjutan diperlukan untuk melihat toleransi tanaman kentang terhadap suhu tinggi pada kondisi lapangan. Pengujian tersebut penting untuk melihat keeratan hubungan antara karakter-karakter yang diuji sebelumnya dan kemampuan menghasilkan umbi maupun perubahan produksi umbi. Apabila terdapat hubungan yang erat antarkarakter stabilitas membran dan kandungan klorofil pada suhu tinggi dengan produksi umbi pada suhu tinggi, maka pengujian terhadap dua karakter tersebut dapat dilakukan untuk seleksi awal pada genotip kentang dalam jumlah yang besar.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Varietas Cipanas dan Ping 06, serta klon CIP 390663.8, CIP 392781.1, CIP 394613.139, CIP 394614.117, dan CIP 395195.7 mengalami kerusakan membran sel daun yang rendah (kurang dari 40%) pada perlakuan suhu tinggi.
2. Suhu tinggi menyebabkan penurunan kandungan klorofil daun planlet secara umum. Varietas Ping 06 dan klon CIP 395195.7 memiliki kandungan total klorofil yang tinggi pada kondisi suhu tinggi, dengan penurunan total klorofil akibat suhu tinggi yang kecil.
3. Diperlukan pengujian stabilitas membran sel dan kandungan klorofil daun pada beberapa kondisi suhu tinggi untuk memastikan dugaan sifat toleran tanaman kentang berdasarkan kedua indikator tersebut.
4. Diperlukan konfirmasi lebih lanjut dengan kondisi suhu tinggi di lapangan sebelum pengujian stabilitas membran dan kandungan klorofil planlet dapat digunakan sebagai indikator seleksi toleransi suhu tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Iteu M. Hidayat, yang telah banyak memberi saran dan masukan dalam pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga penulis tujukan kepada Sdr. Suharyanti, Sdr. Juniarti P. Sahat, dan Sdr. Imas yang telah membantu dalam analisis klorofil dan pelaksanaan penelitian secara umum.

PUSTAKA

1. Aien, A, Khetarpal, S & Pal, M 2011, 'Photosynthetic characteristics of potato cultivars grown under high temperature', *Am.-Euras. J. Agric. & Environ. Sci.*, vol. 11, no. 5, pp. 633-39.
2. Almeselmani, M, Deshmukh, PS & Chinnusamy, V 2012, 'Effects of prolonged high temperature stress on respiration, photosynthesis and gene expression in wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties differing in their thermotolerance', *Plant Stress*, vol. 6, no. 1, pp. 25-32.
3. Alsadon, AA, Wahb-allah, MA & Khalil, SO 2006, 'In vitro evaluation of heat stress tolerance in some tomato cultivars', *J. King Saud Univ.*, vol. 19, no. 1, pp.13-24.
4. Anzlovar, S., Kovac, M & Ravnikar, M 1996, 'Photosynthetic pigments in healthy and virus-infected potato plantlets (*Solanum tuberosum* L.) grown in vitro', *Phyton.*, vol 36, pp. 221-30.
5. Arnon, DI 1949, 'Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*', *Plant Physiol.*, vol. 24, pp. 1-15.
6. Arvin, MJ & Donnelly, DJ 2008, 'Screening potato cultivars and wild species to abiotic stresses using an electrolyte leakage bioassay', *J. Agric. Sci. Technol.*, vol. 10, pp. 33-42.
7. Balouchi, H.R. 2010. 'Screening wheat parents of mapping population for heat and drought tolerance, detection of wheat genetic variation', *J. Biological and Life Science*, vol. 6, no. 1, pp. 56-66.
8. Collado, MB, Arturi, MJ, Aulicino, MB & Molina, MC 2010, 'Identification of salt tolerance in seedling of maize (*Zea mays* L.) with the cell membrane stability trait', *Int. Res. J. Plant Sci.*, vol. 1, no. 5, pp. 126-32.
9. Efeoglu, B & Terzioglu, S 2009, 'Photosynthetic responses of two wheat varieties to high temperature', *Eur.Asia J. BioSci.*, vol. 3, pp. 97-106.
10. Ewing, EE 1985, 'Cuttings as simplified models of the potato plant', in Li, PH (ed.), *Potato Physiology*, Acad. Press, New York.
11. Kotak, S., Larkindale, J, Lee, U, Do ring, PvK, Vierling, KE & Scharf, KD 2007, 'Complexity of the heat stress response in plants', *Curr. Opin. Plant Biol*, vol. 10, pp. 310-16.
12. Levitt, J 1972, *Responses of plant to environmental stresses*, Acad. Press, New York.
13. Liu, X & Huang, B 2000, 'Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in Creeping Bentgrass', *Crop Sci.*, vol. 40, pp. 503-10.

14. Murashige, T & Skoog, F 1962, 'A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures', *Physiol. Plant.*, 15, pp. 473-97.
15. Rana, RM, Khan, SH, Ali, Z, Khan, AI & Khan, IA 2011, 'Elucidation of thermotolerance diversity in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) using physio-molecular approaches', *Genet. and Mol. Research*, vol. 10, no. 2, pp.1156-67.
16. Reynolds, MP, Ewing, EE & Owens, TG 1990, 'Photosynthesis at high temperature in tuber-bearing Solanum species, A comparison between accessions of contrasting heat tolerance', *Plant Physiol.*, vol. 93, pp.791-97.
17. Sullivan, CY & Ross, WM 1979, 'Selecting for drought and heat resistance in grain sorghum', in Mussel, H., & Staples, RC (eds.), *Stress Physiology in Crop Plants*, John Wiley and Sons, New York.
18. Syarifi, P, Amirnia, R, Majidi, E, Hadi, H, Roustaii, M, Nakhoda, M, Alipoor, HM & Moradi, F 2012, 'Relationship between drought stress and some antioxidant enzymes with cell membrane and chlorophyll stability in wheat lines', *Afr. J. Microbiol Res.*, vol. 6, no. 3, pp. 617-23.
19. Tewari, AK & Tripathy, BC 1998, 'Temperature-stress-induced impairment of chlorophyll biosynthetic reactions in cucumber and wheat', *Plant Physiol.*, vol. 117, pp. 851-58.
20. Timmlin, D, Raman, SML, Baker, J, Reddy, VR, Fleisher, D & Quebedeaux, B 2006, 'Whole plant photosynthesis, development and carbon partitioning in potato as a function of temperature', *Agron. J.*, vol. 98, pp.1195-203.
21. Wahid, A, Gelani, S, Ashraf, M & Foolad, MR 2007, 'Heat tolerance in plants: an overview', *Environ. Exp. Bot.*, vol. 61, pp. 199-223.