

**ANALISA PENGARUH PANJANG GELOMBANG SUMBER CAHAYA
PENGINDUKSI FLUORESENSI TERHADAP FLUORESENSI KLOORIFIL
PADA DAUN BAYAM YANG DIPENGARUHI VARIASI SINAR MATAHARI**

Minarni, Fitria Asriani*

Jurusan Fisika FMIPA Universitas Riau

*e-mail: fitriaasriani1@gmail.com

ABSTRACT

Chlorophyll fluorescence imaging and spectroscopy can be used to detect early abnormalities on plants, which are caused by plant diseases, harsh environments, and intentional treatments. Development in chlorophyll imaging and spectroscopy which is economical, low cost, and portable are needed in attempts to explore fluorescence spectrum as markers for diseases and environmental stresses on plants. In this research, a fluorescence imaging system was built using LEDs with three variations in wavelengths i.e. 450 nm; 525 nm; and 680 nm, and a 3 Mega Pixel CMOS camera. The LED light was used as an excitation beam to induce chlorophyll fluorescence of spinach leaves. Relation between the LED wavelengths and the fluorescence intensities of the spinach leaves were investigated. The samples were Spinach leaves from *Amaranthus tricolor* Spinach plants grown under two variations of sunlight intensities. Two variations of the intensities were about 90% using plastic as the cover and 40% using plastic plus paranet. Relation between the sunlight intensity and fluorescence intensity was also investigated. The fluorescence intensity of the leaves were measured from RGB plot using Image-J software. The research results show that fluorescence intensity of the samples without paranet were higher than those using paranet. This is possibly caused by chlorophyll contents which is higher on plants without paranet. The excitation wavelength that showed the highest different fluorescence intensity was 680 nm, which showed 6,3% the difference in fluorescence intensity using and without paranet while for other excitation wavelength were 0,4% and 1,7% for 450 nm and 525 nm respectively.

Keywords: *Amaranthus tricolor* spinach, chlorophyll fluorescence, fluorescence imaging, Image-J, wavelength dependent fluorescence.

PENDAHULUAN

Teknik spektroskopi telah banyak dikembangkan untuk mendeteksi berbagai kelainan pada tumbuhan. Kelainan tersebut dapat disebabkan oleh penyakit, pengaruh lingkungan maupun perlakuan yang disengaja. Teknik spektroskopi berdasarkan panjang gelombang sumber cahaya yang digunakan dapat dibagi dalam empat jenis, yaitu spektroskopi UV, spektroskopi *Visible*, spektroskopi UV-Vis, dan spektroskopi IR. Jenis spektroskopi menurut interaksi antara cahaya dan materi terbagi atas spektroskopi absorpsi, spektroskopi emisi dan spektroskopi fluoresensi. Beberapa penelitian menggunakan metode spektroskopi telah digunakan untuk tanaman, yaitu untuk mendeteksi penyakit dan tekanan mekanik pada tanaman jeruk (Belasque *et al*, 2008), dan Sankaran *et al* (2010) menggunakan spektroskopi *mid-infrared* dalam mendeteksi penyakit Huanglongbin pada daun jeruk sehingga diperoleh perbedaan spektrum daun sehat dan daun yang terinfeksi Huanglongbin.

Spektroskopi fluoresensi merupakan metode spektroskopi yang mengamati intensitas atau spektrum

fluoresensi sinar pada suatu zat yang dikenai cahaya. Spektroskopi fluoresensi yang menggunakan Kamera CCD (*Charged Couples Devices*) atau CMOS (*Complementary Metallic Oxide Semiconductor*) sering disebut Pencitraan Fluoresensi (*Fluorescence Imaging*). Metode ini biasanya digunakan dalam biologi, kedokteran, bidang penelitian fisika dan kimia untuk berbagai tujuan. Fluoresensi merupakan salah satu proses yang terjadi ketika cahaya berinteraksi dengan suatu materi, dimana ketika atom atau partikel menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu akan memancarkan kembali cahaya dengan panjang gelombang yang lebih besar (Lemboumba, 2006). Fluoresensi terjadi karena adanya sifat dari partikel yang akan langsung memancarkan cahaya ketika memperoleh rangsangan cahaya dari luar, namun pancaran tersebut akan hilang ketika rangsangan cahaya dari luar dihilangkan. Spektroskopi fluoresensi dapat diaplikasikan ke berbagai jenis sampel baik dalam bentuk larutan maupun padatan. Spektroskopi fluoresensi juga dapat langsung diaplikasikan ke daun untuk

menganalisa konsentrasi klorofil pada daun.

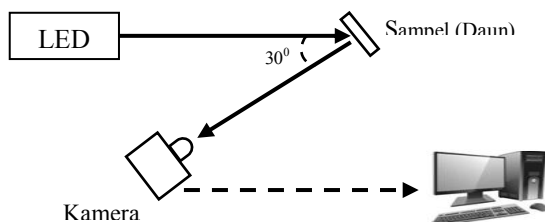
Daun merupakan hal terpenting yang harus ada pada tumbuhan. Warna hijau pada daun disebabkan karena adanya kandungan kloroplas di dalam sel-sel daun. Kloroplas mengandung suatu pigmen yang berwarna hijau yang disebut klorofil. Klorofil berfungsi menyerap energi foton dari sinar matahari. Klorofil menyimpan energi matahari dalam bentuk makanan dan bahan bakar yang nantinya akan digunakan dalam proses pembakaran atau fotosintesis (Santoso, 2004).

Sistem deteksi dini pada daun dapat dilakukan dengan menggunakan teknik spektroskopi fluoresensi atau pencitraan fluoresensi. Hasil fluoresensi daun dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti penyakit atau gangguan pada daun dan sumber cahaya yang digunakan. Pengembangan sistem deteksi fluoresensi pada daun yang *low cost* dan efektif sangat diperlukan dalam usaha untuk mengeksplorasi penanda berupa spektrum karena pengaruh berbagai penyakit dan lingkungan pada tanaman. Penelitian lebih lanjut juga dibutuhkan untuk mengetahui panjang gelombang sumber cahaya yang efisien

yang dapat memberikan penanda yang lebih baik.

Penelitian ini bertujuan untuk membangun sebuah sistem optik pencitraan fluoresensi yang digunakan untuk mendeteksi intensitas fluoresensi pada daun yang diinduksi oleh sumber cahaya LED. Daun yang digunakan adalah daun dari tanaman bayam yang diberi perlakuan untuk memvariasikan intensitas cahaya matahari yaitu 40% dengan menggunakan naungan paranet dan plastik dan 90% dengan menggunakan plastik tanpa paranet. Hasil pengamatan digunakan untuk menganalisa hubungan antara panjang gelombang cahaya penginduksi fluoresensi yang digunakan dengan intensitas fluoresensi pada daun yang dipengaruhi variasi cahaya matahari. Analisa dilakukan pada gambar daun yang disinari dan telah direkam oleh kamera CMOS dengan menggunakan program *Image-J*.

METODE PENELITIAN



Gambar 1. Skema Rancangan Sistem Penelitian (Lemboumba, 2006)

Penelitian ini menggunakan LED dengan 3 variasi panjang gelombang, yaitu 450 nm (biru), 525 nm (hijau) dan 680 nm (merah). Sistem pencitraan fluoresensi yang dibangun disusun seperti Gambar 1. Sistem dibangun dalam sebuah kotak hitam untuk meminimalkan cahaya ruang. Cahaya diarahkan ke daun pada jarak 28 cm sehingga berkas cahaya mengenai seluruh permukaan daun. Pengamatan fluoresensi direkam dengan menggunakan kamera yang dihubungkan dengan komputer. Kamera yang digunakan adalah kamera CMOS 3 MP yang telah dilengkapi dengan *software* perekam gambar. Program *Image-J* digunakan untuk menganalisa spektrum fluoresensi yang dihasilkan. *Image-J* menampilkan hubungan antara intensitas sebagai nilai

dari RGB dan posisi pixel dari daun yang disinari cahaya LED.

Penelitian dimulai dengan pencarian benih bayam. Benih bayam yang digunakan adalah bayam hijau jenis *Amaranthus tricolor*. Pembenihan dilakukan pada polybag berdiameter 15 cm yang telah diisi dengan campuran tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1. Ini dilakukan tiga hari sebelum bayam disebar. Penyiraman dilakukan maksimal 2 kali sehari yaitu pagi dan sore dengan ukuran 125 mL/polybag.

Setelah berumur 10 hari bayam diberi perlakuan, yaitu perbedaan intensitas cahaya matahari. Intensitas cahaya matahari divariasikan dengan menggunakan naungan paranet (plastik dan paranet) dan tanpa paranet (plastik). Naungan plastik berfungsi untuk melindungi tanaman dari hujan. Nilai intensitas cahaya matahari diukur pada pukul 12.00 WIB setiap hari selama 10 hari pengamatan. Intensitas cahaya matahari rata-rata pada sampel tanpa paranet adalah 464.190 W/m², sedangkan pada sampel dengan menggunakan paranet adalah 208.156 W/m². Sebanyak 10 daun diambil sebagai sampel untuk diteliti. Pengujian spektrum fluoresensi dilakukan setelah

bayam berumur 25 hari. Daun yang dijadikan sampel terlebih dahulu didiamkan ditempat yang gelap selama 30 menit sebelum diuji.

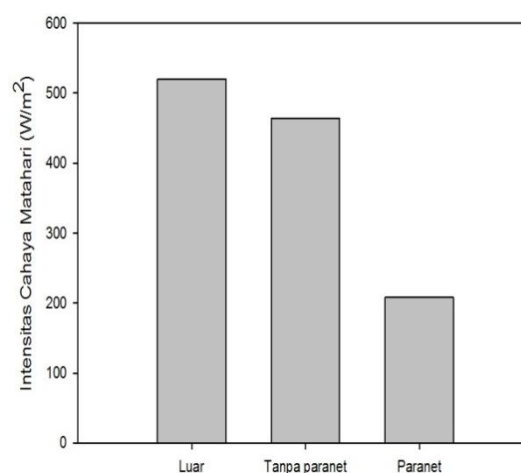
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan dua jenis sampel, yaitu daun yang menggunakan paranet dan plastik dan daun yang hanya menggunakan naungan plastik tanpa paranet. Perbedaan perlakuan tersebut akan mempengaruhi besarnya intensitas cahaya matahari yang mengenai daun. Perbedaan ini dapat dilihat pada Gambar 1.

Penggunaan naungan baik plastik maupun paranet mengurangi intensitas cahaya matahari yang mengenai daun. Plastik bening yang bertujuan untuk melindungi tanaman dari hujan hanya meneruskan intensitas cahaya matahari sebesar 90% dari intensitas cahaya matahari luar. Besar intensitas cahaya matahari yang mengenai daun dengan menggunakan paranet hanya 40% dari intensitas cahaya matahari luar.

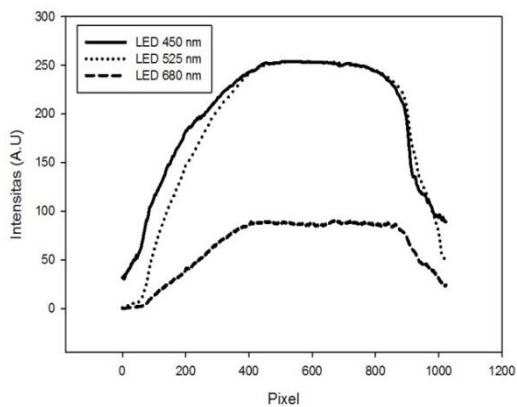
Perbedaan intensitas cahaya matahari dapat mempengaruhi intensitas fluoresensi pada daun. Semakin besar intensitas cahaya matahari maka akan

semakin besar intensitas fluoresensi. Hal ini dimungkinkan adanya perbedaan jumlah kandungan klorofil pada daun karena pengaruh intensitas cahaya matahari. Pengukuran kandungan pada daun perlu dilakukan.

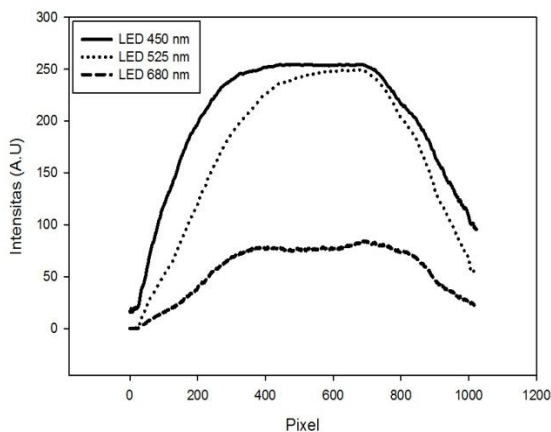


Gambar 2. Grafik intensitas cahaya matahari rata-rata pada sampel tanpa paranet dan menggunakan paranet

Intensitas fluoresensi juga dipengaruhi oleh panjang gelombang sumber cahaya penginduksi fluoresensi yang digunakan. Sumber cahaya yang digunakan adalah LED biru, hijau dan merah dengan panjang gelombang masing-masing LED adalah 450 nm, 525 nm dan 680 nm. Perbedaan intensitas fluoresensi klorofil daun karena pengaruh panjang gelombang eksitasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4.



Gambar 3, Grafik intensitas fluoresensi daun bayam tanpa menggunakan paranet

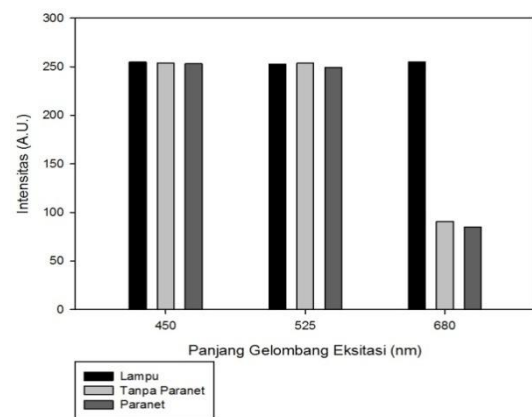


Gambar 4. Grafik intensitas fluoresensi daun bayam yang menggunakan paranet

Panjang gelombang eksitasi mempengaruhi intensitas fluoresensi klorofil pada daun yang digunakan. Hal ini terjadi pada semua perlakuan baik yang menggunakan paranet maupun tanpa menggunakan paranet. Intensitas fluoresensi klorofil daun maksimum diperoleh pada panjang gelombang eksitasi 450 nm (biru), sedangkan

intensitas fluoresensi klorofil minimum diperoleh pada panjang gelombang eksitasi 680 nm (merah).

Intensitas fluoresensi daun tanpa menggunakan paranet lebih tinggi dibandingkan daun yang menggunakan paranet. Perbedaan ini dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik pengaruh panjang gelombang terhadap intensitas fluoresensi

Pada Gambar 5 terlihat adanya penurunan yang signifikan dari intensitas LED mula-mula ke intensitas fluoresensi pada panjang gelombang eksitasi 680 nm, sedangkan pada panjang gelombang eksitasi 450 nm dan 525 nm tidak terlalu terlihat adanya perbedaan yang signifikan. Intensitas fluoresensi menurun seiring peningkatan panjang gelombang

eksitasi. Hal ini disebabkan klorofil lebih efektif menyerap cahaya pada panjang gelombang merah, sehingga intensitas fluoresensi pada panjang gelombang tersebut lebih kecil. Peningkatan efisiensi penyerapan cahaya pada daun mengakibatkan penurunan efisiensi fluoresensi klorofil pada daun tersebut.

Intensitas fluoresensi klorofil rata-rata daun tanpa menggunakan paranet lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan paranet. Perbedaan intensitas fluoresensi antara perlakuan tanpa menggunakan paranet dan dengan menggunakan paranet adalah 6,3% untuk panjang gelombang eksitasi 680 nm, sedangkan untuk panjang gelombang 450 nm dan 525 nm berturut-turut adalah 0,4% dan 1,7%. Hal ini menunjukkan bahwa panjang gelombang sumber cahaya penginduksi dan intensitas cahaya matahari mempengaruhi intensitas fluoresensi pada daun.

KESIMPULAN DAN SARAN

Suatu sistem pencitraan fluoresensi yang terdiri dari sumber cahaya LED dan kamera CMOS telah berhasil dibangun dan digunakan untuk

menganalisa intensitas fluoresensi klorofil pada daun yang mengalami perlakuan perbedaan intensitas cahaya matahari dengan variasi panjang gelombang eksitasi. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa intensitas fluoresensi sampel daun tanpa paranet lebih tinggi dibandingkan sampel daun dengan menggunakan paranet. Perbedaan intensitas fluoresensi antara kedua perlakuan tersebut ketika dieksitasi dengan panjang gelombang 450 nm, 525 nm dan 680 nm adalah 0,4%; 1,7% dan 6,3%. Panjang gelombang yang lebih efektif untuk mendeteksi perbedaan intensitas fluoresensi tersebut adalah sinar merah dengan panjang gelombang 680 nm.

DAFTAR PUSTAKA

- Arrohmah. 2007. *Studi Karakteristik Klorofil Pada Daun Sebagai Material Photodetector Organic*. Skripsi. Universitas ebelas Maret. Surakarta.
- Belasque, Jr. J., Gasparoto, M. C. G., Marcassa, L. G. 2008. Detection of mechanical and disease stresses in citrus plants by fluorescence spectroscopy.

- Applied Optics*, 47 (11): 1922-1926.
- Dwidjosoepuro. 1991. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. Gramedia. Jakarta.
- Lemboumba, S. O. 2006. *Laser Induced Chlorophyll Fluorescence of Plant Material*. Thesis. University of Stellenbosch. Afrika Selatan. Maxwell, G. L., Johnson. 2000. Chlorophyll Fluorescence A Partical Guide. *Journal of Experiment Botany* 51:659-669.
- Prasad, Paras N. 2003. *Introduction To Biophotonic*. A John Wiley & Sons, Inc., Publication. New Jersey.
- Sankaran, S., Ehsani, R., Etxeberria. 2010. Mid-infrared spectroscopy for detection of huanglongbing (greening) in citrus leaves. *Talanta*, 83 (2): 574-581.
- Tai, S. Y., Shih, S. T. 2006. A Low Cost LED Based Spectrometer. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 53: 1067-1072.