

ANALISA PENGARUH INTENSITAS SUMBER CAHAYA PENGINDUKSI FLUORESENSI TERHADAP INTENSITAS FLUORESENSI KLOOROFIL PADA DAUN BAYAM MENGGUNAKAN METODE *FLUORESCENCE IMAGING*

Minarni, Iswanti Sihaloho*

Jurusan Fisika FMIPA Universitas Riau
*e-mail : iswantisihaloho93@gmail.com

ABSTRACT

Chlorophyll fluorescence imaging and spectroscopy has been developed intensively during last decade to detect early symptoms of plant diseases and effects of environmental stresses on plants. An economical, portable, and remote sensing system is needed for those purposes. In this research, a fluorescence imaging system was built using a LED with 465 nm wavelength, some neutral density filters and a 3 Mega Pixel CMOS camera. The intensities of LED light were varied using 5 different optical densities of the neutral density filters which were represented by their optical power after filtered 5,0 mW; 3,3 mW; 2,0 mW; 1,5 mW; and 0,7 mW respectively. This system was used to investigate the relation between the intensity of LEDs as a fluorescence inducer and the fluorescence intensity of spinach leaves grown under two variations of sunlight intensity. The variations were about 90% using plastic cover and 40% using plastic plus paranet cover. The spinach plant was *Amaranthus tricolor* varitas. The differences between chlorophyll fluorescence intensity of the spinach leaves for both treatment were also investigated. The fluorescence intensities were found from RGB plot using ImageJ software. The reseach results showed that intensity of LED light influenced the fluorescence intensity resulted on the spinach leaves. The higher the intensity of LED, the higher the fluorescence intensity. The spinach leaves grown without paranet provided higher fluorescence intensity however, the difference between both treatments was seen higher when LED intensity was the lowest which was about 41,6% difference.

Keywords : Fluorescence Imaging, ImageJ, CMOS camera, LED-Induced Fluorescence, Excitation Intensity Variation

PENDAHULUAN

Pertumbuhan, perkembangan, dan hasil yang akan diperoleh dari setiap tanaman dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan penyakit tanaman. Pengaruh lingkungan dapat menimbulkan kerugian besar khususnya pada sektor perkebunan, sehingga diperlukan sistem deteksi untuk mendeteksi pengaruh lingkungan dan penyakit pada tanaman.

Beberapa metode telah dikembangkan untuk mendeteksi penyakit dan pengaruh lingkungan pada tanaman. Pada umumnya metode deteksi yang digunakan pada tanaman adalah metode diagnosa secara manual dengan melihat tanda-tanda visual dan metode molekular (Ardiana, 2008 ; Putra dkk, 2013 ; Pandin, 2010). Metode ini membutuhkan keahlian khusus dan biaya yang mahal serta

waktu yang lama untuk melihat satu per satu tanaman secara detail pada daun dan batangnya.

Perkembangan teknologi di bidang sumber cahaya yaitu LED dan laser serta perkembangan di bidang spektroskopi fluoresensi memungkinkan untuk mengembangkan metode deteksi dini yang ekonomis, efisien, *portable* dan *remote sensing*. Beberapa metode spektroskopi seperti spektroskopi *visible-near infrared*, spektroskopi *mid-infrared*, dan spektroskopi fluoresensi telah dikembangkan dalam beberapa tahun terakhir ini untuk mendeteksi pengaruh lingkungan pada tanaman. Salah satunya yaitu penelitian Belasque *et al.* (2008) yang menggunakan metode spektroskopi untuk mengetahui penyakit dan tekanan mekanik pada tanaman jeruk serta penelitian Sankaran dan Reza (2013) yang menggunakan spektroskopi *mid-infrared* dalam mengetahui penyakit Huanglongbin pada daun jeruk. Penelitian kedepan adalah menentukan *marker* (penanda) untuk berbagai penyakit dan gangguan pada tanaman berdasarkan spektrum fluoresensi klorofil.

Cahaya akan diserap oleh klorofil untuk proses fotosintesis ketika cahaya matahari mengenai daun. Tetapi tidak semua cahaya tersebut digunakan untuk proses fotokimia sebagian cahaya akan emisikan dalam bentuk fluoresensi dan panas. Ketiga proses ini saling berkompetesi. Apabila terjadi peningkatan pada salah satu proses maka akan terjadi penurunan efisiensi pada dua proses yang lain (Maxwell dan Johnson, 2000). Dengan mengukur hasil fluoresensi dari klorofil, informasi tentang perubahan efisiensi proses fotokimia dan panas dapat diketahui, dan pengukuran fluoresensi karena

pengaruh lingkungan lebih efisien dilakukan (Calderon *et al.*, 2011 ; Sankaran *et al.*, 2010).

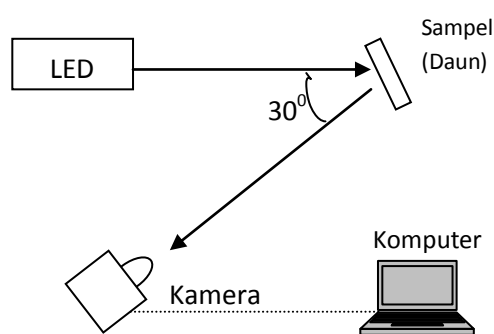
Secara umum metode deteksi menggunakan spektroskopi fluoresensi klorofil dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode langsung pada daun dan metode tidak langsung. Metode deteksi secara langsung dapat dilakukan dengan menggunakan cahaya matahari sebagai sumber cahaya penginduksi pada daun. Namun deteksi hasil fluoresensi juga dapat dilakukan dengan menggunakan laser atau LED sebagai sumber cahaya penginduksinya yang dilakukan dengan membawa daun tanaman atau tanaman utuh ke laboratorium (Saito *et al.*, 2005 ; Yang dan Yu, 2012 ; Hsiao *et al.*, 2010 ; Lemboumba, 2006). Spektroskopi fluoresensi yang menggunakan kamera CCD (*Charge Coupled Device*) dan CMOS (*Complementary Metal Oxide Semiconductor*) sebagai detektor sering disebut *fluorescence imaging* atau pencitraan fluoresensi.

Hubungan antara spektrum fluoresensi dan intensitas yang diemisikan bergantung terhadap intensitas dan panjang gelombang sumber cahaya penginduksi. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui panjang gelombang dan intensitas sumber cahaya yang efisien yang dapat memberikan penanda yang lebih baik.

Pada penelitian ini, sebuah sistem optik pencitraan fluoresensi yang terdiri dari sumber cahaya penginduksi yaitu LED, ND filter, lensa dan kamera CMOS dibangun dan dikarakterisasi. Sistem ini digunakan untuk mendeteksi fluoresensi klorofil pada daun bayam yang mengalami perlakuan yaitu perbedaan intensitas cahaya matahari. Intensitas dari sumber cahaya

penginduksi fluoresensi (LED) yang digunakan divariasikan. Hubungan antara intensitas spektrum fluoresensi terhadap variasi intensitas cahaya penginduksi fluoresensi (LED) pada daun bayam yang tumbuh karena pengaruh intensitas cahaya matahari yang berbeda dianalisa. Analisa dilakukan dengan menggunakan program ImageJ untuk memperoleh *RGB value* dari *image* daun yang direkam kamera ketika daun disinari cahaya LED.

METODE PENELITIAN



Gambar 1. Skema Sistem Penelitian (Leumbomba, 2006)

Gambar 1 adalah skema penelitian yang dilakukan pada penelitian ini. LED yang digunakan yaitu *high power* LED yang disebut dengan ELJ 465-627 merk Roithner dengan panjang gelombang 465 nm (biru) langsung diarahkan ke *neutral density filter* (ND filter) untuk divariasikan intensitasnya yaitu sebanyak 5 variasi intensitas. Sinar biru yang telah melewati ND filter tersebut diteruskan pada daun. Pengamatan fluoresensi atau perubahan warna pada daun akan direkam menggunakan kamera CMOS yang dihubungkan dengan komputer. Kamera CMOS 3MP yang digunakan dilengkapi dengan *software* perekam gambar. Gambar direkam dalam file bmp. Program

ImageJ digunakan untuk menganalisa spektrum fluoresensi yang dihasilkan. ImageJ akan menampilkan hubungan antara intensitas sebagai nilai dari RGB dan posisi pixel dari daun yang disinari cahaya LED.

Penelitian ini dimulai dengan pencarian benih bayam. Benih bayam yang digunakan adalah bayam hijau varietas *Amarantus tricolor*. Pembenihan dilakukan oleh Petani bayam yang telah berpengalaman. Pembenihan dilakukan pada polybag berdiameter 15 cm, yang telah diisi dengan campuran tanah dan kompos dengan perbandingan 1 : 1. Ini dilakukan 3 hari sebelum biji bayam disebar. Benih bayam ini disebar secara merata dan ditutup tipis dengan tanah. Penyiraman dilakukan pada pagi dan sore hari dengan ukuran 125 ml per polybag. Pemupukan pertama dilakukan 7 hari setelah penaburan benih bayam. Pupuk yang digunakan adalah pupuk NPK mutiara yang telah dicairkan dengan perbandingan 15 gr pupuk untuk 100 mL air. Pemupukan kedua dilakukan 7 hari kemudian, dengan pupuk yang diberikan tetap NPK mutiara, namun tanpa dicairkan. Setiap sampel akan diberikan 5-8 butir pupuk, bergantung dari banyaknya tumbuhan dalam satu polybag (Irianti dkk, 2013).

Setelah berumur 10 hari dari penyebaran benih, bayam dipindahkan dari kebun bayam untuk mulai diberi perlakuan. Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan intensitas radiasi cahaya matahari dengan menggunakan naungan. Naungan yang digunakan ada dua jenis yaitu plastik dan naungan plastik *plus* paranet. Naungan paranet digunakan untuk mengurangi intensitas radiasi cahaya matahari, sedangkan naungan plastik berfungsi untuk melindungi tanaman dari hujan.

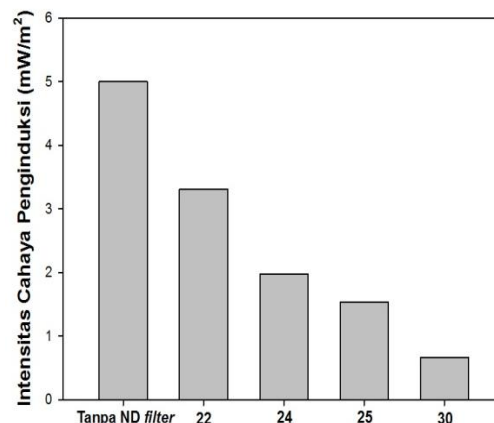
Sistem optik dibangun dalam sebuah kotak hitam untuk meminimalkan cahaya ruang. Sistem dibangun seperti Gambar 1. Pengukuran spektrum fluoresensi dilakukan setelah bayam berumur 25 hari dari waktu penyebaran benih. Daun bayam dibawa ke Laboratorium untuk disinari cahaya LED. Daun bayam terlebih dahulu didiamkan selama 30 menit dalam ruang gelap. Daun bayam sebanyak 5 sampel dari setiap naungan untuk dirata-ratakan disinari cahaya LED dengan variasi intensitas sumber cahaya penginduksi. Spektrum fluoresensi yang diperoleh dengan variasi intensitas penginduksi fluoresensi dari daun bayam yang mengalami perlakuan dianalisa menggunakan program Image J.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini intensitas sumber cahaya penginduksi divariasikan menggunakan ND filter, dimana ND filter memiliki nilai *optical density* (OD) yang berpengaruh pada jumlah cahaya yang mengenainya. Perbedaan variasi antara satu sama lain diwakili oleh daya cahaya LED setelah ND filter. Daya cahaya LED yang dihasilkan tanpa menggunakan ND filter adalah 5,0 mW, sedangkan daya cahaya yang dihasilkan dengan menggunakan ND filter secara berturut-turut adalah 3,3 mW; 2,0 mW; 1,5 mW; dan 0,7 mW.

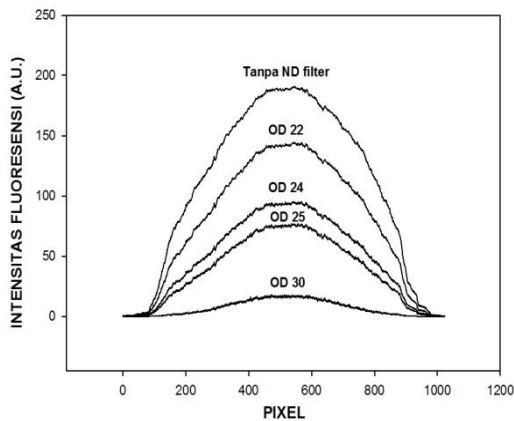
Gambar 2 merupakan grafik intensitas sumber cahaya penginduksi yaitu LED *versus* nilai *optical density* dari setiap ND filter. Dari grafik terlihat bahwa intensitas sumber cahaya penginduksi berbanding terbalik dengan nilai *optical density* dari ND filter. Dengan meningkatnya nilai *optical density* yang digunakan maka intensitas

sumber cahaya penginduksi akan semakin menurun.

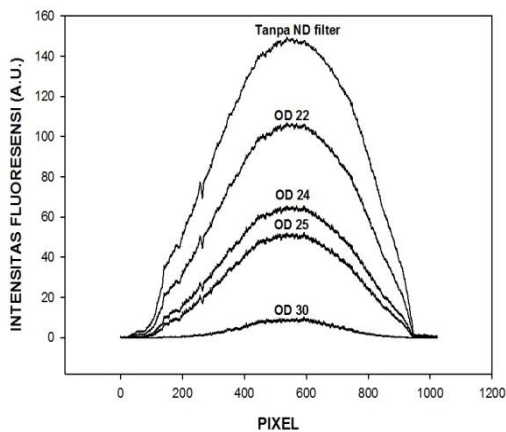


Gambar 2. Grafik Intensitas Sumber Cahaya Penginduksi berdasarkan Nilai *Optical Density*

Intensitas sumber cahaya penginduksi yang berbeda menghasilkan intensitas fluoresensi yang berbeda pula. Sumber cahaya penginduksi yang digunakan adalah LED dengan panjang gelombang 465 nm. Gambar 3 dan Gambar 4 memperlihatkan intensitas fluoresensi klorofil lebih tinggi tanpa menggunakan ND filter baik itu untuk sampel yang menggunakan naungan plastik ataupun sampel yang menggunakan naungan plastik *plus* paranet. Intensitas fluoresensi klorofil yang menggunakan ND filter lebih tinggi pada nilai OD 22 dengan daya cahaya LED 3,3 mW dan yang paling rendah yang menggunakan nilai OD 30 dengan daya cahaya LED 0,7 mW. Intensitas fluoresensi yang dihasilkan berbanding lurus dengan intensitas sumber cahaya penginduksi yang digunakan. Semakin tinggi intensitas sumber cahaya penginduksi maka akan semakin tinggi pula nilai intensitas fluoresensi yang dihasilkan.



Gambar 3. Intensitas Fluoresensi dengan Perbedaan Sumber Cahaya Penginduksi pada Daun Bayam Menggunakan Naungan Plastik



Gambar 4. Intensitas Fluoresensi dengan Perbedaan Sumber Cahaya Penginduksi pada Daun Bayam Menggunakan Naungan Plastik *plus* Paranet

Selain bergantung pada intensitas cahaya penginduksi, intensitas fluoresensi juga bergantung pada sampel yang digunakan. Pada penelitian ini daun bayam varietas *Amaranthus tricolor* yang digunakan sebagai sampel merupakan daun bayam yang telah diberi perlakuan perbedaan intensitas cahaya matahari. Intensitas radiasi cahaya matahari diukur pada pukul 12.00 WIB setiap hari selama 10 hari pengamatan. Pengukuran intensitas

cahaya matahari ini dilakukan pada saat bayam telah mengalami perlakuan menggunakan luxmeter. Intensitas rata-rata radiasi cahaya matahari yang diperoleh selama pengamatan adalah $464,2 \text{ W/m}^2$ untuk sampel yang menggunakan naungan plastik dan $208,2 \text{ W/m}^2$ untuk sampel yang menggunakan naungan plastik *plus* paranet.

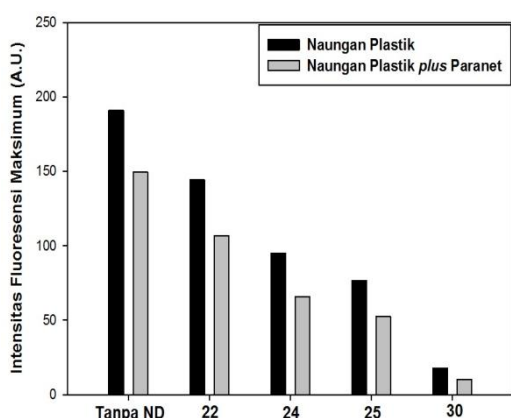
Penggunaan naungan berpengaruh pada intensitas cahaya matahari yang mengenai sampel. Naungan plastik yang bertujuan melindungi sampel dari hujan meneruskan 90% intensitas cahaya matahari, sedangkan naungan plastik *plus* paranet meneruskan intensitas cahaya matahari sebesar 40% dari intensitas cahaya matahari tanpa naungan, dimana intensitas rata-rata radiasi cahaya matahari tanpa naungan adalah $520,0 \text{ W/m}^2$.

Gambar 5 memperlihatkan intensitas fluoresensi maksimum pada daun bayam yang menggunakan naungan plastik dan daun bayam yang menggunakan naungan plastik *plus* paranet. Intensitas fluoresensi maksimum untuk setiap daun bayam yang mengalami perlakuan perbedaan intensitas radiasi cahaya matahari bervariasi. Intensitas fluoresensi maksimum lebih tinggi pada tanaman bayam yang tumbuh menggunakan naungan plastik daripada tanaman bayam yang tumbuh dengan naungan plastik *plus* paranet.

Tanaman bayam yang tumbuh dengan pengaruh naungan plastik memiliki kesempatan lebih banyak menyerap energi cahaya matahari untuk proses fotosintesis. Tanaman bayam yang tumbuh dengan adanya pengaruh naungan plastik *plus* paranet menyerap lebih sedikit energi cahaya matahari.

Besarnya energi cahaya matahari yang diserap mempengaruhi intensitas fluoresensi dari tanaman bayam tersebut. Semakin besar energi cahaya matahari yang diserap oleh tanaman maka akan semakin tinggi intensitas fluoresensinya.

Persentase perbedaan intensitas fluoresensi antara daun bayam menggunakan naungan plastik dengan daun bayam menggunakan naungan plastik *plus* paranet tanpa menggunakan ND filter adalah 21,8%, sedangkan persentase perbedaan intensitas fluoresensi yang menggunakan ND filter secara berturut-turut adalah 26%; 31,1%; 31,8%; dan 41,6%. Perbedaan persentase ini memperlihatkan bahwa perbedaan intensitas fluoresensi antara kedua perlakuan lebih besar ketika intensitas cahaya penginduksi yang lebih kecil.



Gambar 5. Intensitas Fluoresensi Maksimum pada Daun Bayam Menggunakan Naungan Plastik dan Menggunakan Naungan Plastik *plus* Paranet

KESIMPULAN DAN SARAN

Sebuah sistem deteksi telah dibangun untuk mendeteksi pengaruh sumber cahaya penginduksi pada daun bayam yang mengalami perlakuan perbedaan intensitas cahaya matahari.

Semakin tinggi Intensitas sumber cahaya penginduksi maka semakin tinggi intensitas fluoresensi. Intensitas fluoresensi lebih tinggi pada tanaman bayam yang tumbuh menggunakan naungan plastik dibandingkan dengan tanaman bayam yang tumbuh dengan naungan plastik *plus* paranet, namun perbedaan intensitas fluoresensi antara kedua perlakuan lebih besar ketika intensitas cahaya penginduksi lebih kecil. Dengan demikian, metode spektroskopi fluoresensi klorofil menggunakan LED sangat memungkinkan untuk menandakan perubahan lingkungan pada tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardiana, D.W. 2008. Teknik Deteksi *Citrus Tristeza Virus* Strain Indonesia pada Kultivar Jeruk dengan Metode *DAS-Compound Direct ELISA*. *Buletin Teknik Pertanian* 13: 51-54.
- Belasque, J. Jr., M. C. G. Gasparoto, L. G. Marcassa. 2008. Detection of mechanical and disease stresses in citrus plants by fluorescence spectroscopy. *Applied Optics* 47: 1922-1926.
- Calderon, A. E., I. T. Pacheco, J. A. P. Medina, R. A. O. Rios, R. J. R. Troncoso, C. V. Mora, E. R. Garcia, R. G. G. Gonzalez. 2011. Description of photosynthesis measurement methode in green plants involving optical techniques, advantages and limitations. *African Journal of Agricultural Research* 6 : 2638-2647
- Hsiao, S. C, S. Chen, I. C. Yang, C. T. Chen, C. Y. Tsai, Y. K Chuang, F. J. Wang, Y. L. Chen, T. S. Lin, Y. M. Lo. 2010. Evaluation of plant seedling water stress

- using dynamic fluorescence index with blue LED-based fluorescence imaging. *Computers and Electronics in Agriculture* 72: 127-133.
- Irianti, L., R. Syawal, D. Hermansyah, R. Rosyati. 2013. *Manfaat pekarangan sebagai sumber Pangan dan Gizi*. Pusat Penganekaragaman Konsumsi dan Keamanan Pangan. Badan Ketahanan Pangan. Kementerian Pertanian RI.
- Lemboumba, Saturnun Ombinda. 2006. Laser induced chlorophyll fluorescence of plant material. Thesis at the Univesity of Stellenbosch.
- Maxweel, K., G. N. Johnson. 2000. Review Article: Chlorophyll Fluorescence – a Practical Guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- Pandin, D. S. 2010. Penanda DNA untuk Pemulihan Tanaman Kelapa (*Cocosnucifera L.*). *Perspektif* 51: 21-35.
- Putra, G.P.D., W. Ardiartayasa, M. Sritamin. 2013. Aplikasi Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) terhadap Variasi Gejala Penyakit Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD) pada Beberapa Jenis Daun Tanaman Jeruk. *E-jurnal Agroeknologi Tropika* 2: 82-91.
- Saito, Y., T. Matsubara, F. Kobayashi, T. Kawahara, A. Nomura. 2005. Laser-induced Fluorescence Spectroscopy for *In-vivo* Monitoring of Plant Activities. *Information and Technology for Sustainable and Vegetable Production* 05 : 699-708.
- Sankaran, S., A. Mishra, R. Ehsani, C. Davis. (2010). A Review of Advanced Techniques for Detecting Plant Diseases. *Computers and Electronics in Agriculture* 72: 1–13.
- Sankaran, S., E. Reza. (2013). Comparison of visible-near infrared and mid-infrared spectroscopy for classification of huanglongbing and citrus canker infected leaves. *Agric Eng Int : CIGR Journal* 15 : 75-79.
- Yang, H., H. Yu. 2011. Study on chlorophyll fluorescence spectrum in the application of the BP-ANN for diagnosing cucumber diseases and insect pests. *Journal of food, Agriculture and environment* 10: 563-566