

Di Sela-Sela Laboratorium dan Plot Eksperimen

Mulai nomor ini, dibuka satu rubrik baru "*Di Sela-Sela Laboratorium dan Plot Eksperimen*" yang memuat bahasan tentang peralatan dan metode-metode penelitian laboratorium maupun plot-plot eksperimen lapangan (misalnya ekologi, ekofisiologi) yang dipandang baku dan spesifik. Ruang ini terbuka untuk umum. Semoga khasanah pengetahuan pembaca lebih diperkaya.

"PRESSURE CHAMBER", ALAT UNTUK MENGUKUR STATUS DAN TATA AIR DALAM TUMBUHAN

[Pressure Chamber, An Equipment for Studying Plant-Water Relations]

B. P. Naiola

Subkelompok Fisiologi Stres - Laboratorium Treub,
Balitbang Botani, Puslitbang Biologi-LIPI

ABSTRACT

Peran air yang sangat mendasar dan penting dalam tubuh tumbuhan, telah mendorong penelitian-penelitian intensif dalam aspek status air, tata air atau hubungan air-tumbuhan (Plant-Water Relations). Sebagai konsekuensinya, teknik-teknik maupun peralatan ikut dikembangkan untuk mengisi kebutuhan penelitian. Pressure Chamber atau Pressure Bomb merupakan salah satu alat yang khas dan spesifik digunakan dalam studi termaksud di atas. Apa sebenarnya PC, teori dasar dan bagaimana teknik pendekatannya dibahas dalam makalah ini.

Kata kunci/ keywords: Pressure Chamber; status air/ water status; tata air, hubungan air-tumbuhan/Plant Water Relations; komponen potensial/water potential components; potensial air/water potential; potensial osmotik/osmotic potential; tekanan turgor/turgor pressure.

PENDAHULUAN

Air merupakan komponen utama yang menyusun tubuh tumbuhan. Sekitar 60 hingga 90 persen tubuh tumbuhan tersusun dari air. Bahkan pada tumbuhan air (*aquatic plants*) dapat mencapai 95%.

Peranan air sangat mendasar dalam kehidupan tumbuhan. Dalam proses metabolisme air merupakan bagian utama dari mesin fotosintesis. Semua reaksi metabolisme berlangsung dalam fase air. Di sekitar rizosfer air aktif terlibat dalam proses penyerapan mineral ke dalam tubuh tumbuhan. Sebagai pelarut, air berasosiasi dengan transport bahan-bahan terlarut (solute). Air juga berperan sebagai pengatur suhu tubuh tumbuhan (sebagai regulator). Dalam proses perkecambahan, air harus diserap oleh biji-bijian yang sangat kering untuk mengaktifkan enzim-enzim pertumbuhan yang masih dalam status dorman.

MENGUKUR STATUS AIR DALAM TUBUH TUMBUHAN

Karena begitu pentingnya peranan air dalam kehidupan tumbuhan, maka dalam fisiologi tumbuhan, air telah dijadikan sebagai suatu subyek studi tersendiri (*Plant-Water Relations*), namun masih tergolong baru, yaitu dimulai sekitar 50 hingga 60 tahun yang lalu. Dalam kepustakaan standar, bahasan status dan tata air tumbuhan dikenal di bawah beberapa topik seperti *Plant Water Relations*, *Water Relations of Plants*, *Plants and Water*, *Water in Plants*, *Water Flow in Plants* dstnya. Demikian pula berbagai peralatan telah dirancang dan diciptakan untuk mengukur status, tata air, sifat fisik air dan berbagai aspek yang dipengaruhi oleh aktivitas air dalam tubuh tumbuhan antara lain seperti kelakuan stomata, fotosintesis dan respirasi. Peralatan ini dapat digunakan baik dalam laboratorium maupun di lapangan.

PRESSURE CHAMBER

Salah satu alat yang paling sering digunakan dalam mengukur aspek-aspek yang berhubungan dengan air dalam tubuh tumbuhan adalah *Pressure Chamber* (PC) atau seringkali disebut juga dengan nama lain *Pressure Bomb*. Jika diindonesiakan berarti *kamar/ruang bertekanan*. Nama yang dikenakan ini memang sesuai dengan wujud fisiknya yang akan dijelaskan di bawah. Aspek-aspek penting yang diukur dalam studi hubungan air dan tumbuhan yaitu mengukur komponen-komponen potensial air yaitu potensial air total (QV), potensial osmotik ($Q\psi_n$), tekanan turgor (T_p), dan beberapa aspek turunannya.

Pressure Chamber bukanlah satu-satunya alat/metoda yang dipakai dalam mengukur aspek-aspek tersebut di atas. Ada sejumlah metoda yang dipakai untuk tujuan pengukuran komponen-komponen ini (Bennet-Clark, 1959; Knippling, 1967; Zimmermann *et al.*, 1980; Kramer, 1983). Namun dewasa ini hanya dua hingga 3 metoda saja yang masih dipertahankan karena fleksibilitas dan keakuratannya (Losch, 1989). Salah satu yang paling sering dipakai adalah *Pressure Chamber*, yang dianggap sebagai perangkat yang dapat dipercaya karena keakurasiannya dalam mempelajari aspek tata air tumbuhan. Pengambilan data dari sampel (komponen potensial air dan turunan-turunannya) dapat serentak diperoleh dalam waktu yang hampir bersamaan dari sampel yang sama.

PENAMPILAN FISIK PC

Prinsip dan bangunan fisik PC sederhana saja. Dapat dibuat oleh bengkel kelas menengah. Alat ini terdiri dari 3 komponen utama yaitu 'chamber' untuk meletakkan sampel, selang penyalur gas dan tabung silinder berisi gas bertekanan tinggi yang dilengkapi dengan regulator, biasanya N_2 (inflammable) untuk menghindari kemungkinan terbakar/ meledak (Gambar 1).

Pionir pengembangan PC adalah Scholander *et al.* (1965), ketika berupaya mulai mengukur tekanan hidrostatik negatif atau tensi

cairan xilem pada tumbuhan. Dalam waktu relatif singkat, berbagai inovasi berhasil diungkapkan dari penggunaan PC ini. Dewasa ini PC telah berkembang dan dioperasikan dengan bantuan software komputer.

PENGUKURAN KOMPONEN POTENSIAL AIR PADA TUMBUHAN

Potensial air total

Seperti telah dikemukakan di atas bahwa PC memiliki kemampuan untuk mengukur komponen-komponen potensial air serta turunan-turunannya pada tumbuhan yaitu potensial air total, potensial osmotik, tekanan turgor dsbnya.

Untuk mengukur potensial air total dapat digunakan sampel daun tunggal, pucuk atau ranting. Yang penting sampel harus sudah berkembang sempurna yaitu tidak terlampau tua dan tidak terlampau muda (fully expanded). Tangkai daun atau ranting dimasukkan ke dalam komponen 'chamber' kemudian dikunci dengan cara mengeraskan sekrup secukupnya. Kedudukan sampel dalam chamber diletakkan terbalik dengan tangkai menonjol ke luar. Secara perlahan-lahan gas dari silinder bertekanan tinggi dialirkan ke dalam 'chamber' yang berisi sampel. Aliran hams dikontrol agar besarnya kenaikan tekanan dapat terbaca dengan tepat pada panel penunjuk besaran tekanan. Dengan sebuah lensa binokuler, dilakukan pengamatan keluarnya cairan xilem pada permukaan potongan tangkai sampel. Pada saat mulai terlihat cairan, aliran gas dihentikan. Tekanan pada panel dibaca. Nilai tekanan ini disebut '*balance pressure*'¹ (P) dan angka ini (biasanya dalam unit *bar* atau *MPa* — *megaPascal*; $1 \text{ bar} = 0,1 \text{ Mpa} = 0,98 \text{ atmosfer}$) adalah merupakan fungsi dari potensial air total sel-sel/ jaringan pada sampel yang diamati (Scholander *et al.*, 1965; Waring and Cleary, 1967; Boyer, 1967). Nilai ini juga sebenarnya merupakan tekanan potensial cairan xilem (tetapi bertanda terbalik - negatif) (Hellkvist *et al.*, 1974).

Milburn (1979) mempertanyakan **bahwa** apakah tekanan potensial cairan xilem **sama nilainya** dengan potensial air sel-sel sampel **karena**

dua alasan. Pertama, jikalau transpirasi masih tetap berlangsung maka sel-sel mesofil yang berbatasan dengan xilem memiliki nilai potensial air yang lebih negatif (rendah). Justru gradien potensial air yang terjadi antara dua komponen inilah yang mempertahankan berlangsungnya arus transpirasi. Jadi potensial air kedua komponen ini akan mencapai keadaan setara jika transpirasi dihentikan. Alasan kedua, bahwa sejumlah bahan terlarut atau solut (*solute*) mungkin terlarut dalam cairan xilem, menyebabkan nilai tekanan potensial cairan xilem lebih negatif sehingga nilai bacaan potensial air sampel pada PC menjadi 'overestimated'. Kekhawatiran Milburn ini sebenarnya telah terkoreksi dengan percobaan Hellkvist *et al.* (1974), yang mengukur dan membandingkan tekanan potensial cairan xilem pada sitka spruce (*Picea* sp.) dengan *thermocouple psychrometer*. Ternyata nilai gradien potensial ini sangat kecil yakni mendekati nol dan tidak lebih dari 0,2 bar (0.02 MPa) dari cairan sel-sel/jaringan daun.

Potensial osmotik: kurva P- V

Untuk mengukur potensial osmotik dan tekanan turgor, harus diperoleh sebuah kurva yang disebut 'Pressure-Volume Curve', Kurva P-V inilah yang merupakan pusat perhatian PC, karena mampu menurunkan berbagai aspek dalam studi status dan tata air tumbuhan. Kurva P-V ini dapat dikonstruksi dengan menggunakan sampel yang sama ketika mengukur potensial air total. Kurva yang dirintis oleh Scholander *et al.* (1965), dan kemudian dikembangkan oleh Tyree dan Hammel (1972), diturunkan dari potensial air jaringan isothermal. Kurva P-V sebenarnya menjelaskan hubungan antara perubahan potensial air total dan volume sel-sel/ jaringan dalam sampel hidup (Richter *et al.*, 1980; Tyree dan Jarvis, 1982).

Untuk mengkonstruksi kurva P-V, biasanya sampel terlebih dahulu direhidrasi agar sel-sel/ jaringan mencapai tekanan turgor penuh (*fully turgid*). Caranya, sampel daun/ ranting dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer atau sejenisnya yang berisi air (bagian kayu saja yang

terendam air), dan ditutup dengan kantong plastik agar kedap uap air. Lama perendaman dapat 2 jam hingga mencapai satu hari, tergantung tingkat stres sampel.

Kemudian dengan cepat sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam 'chamber' PC (lihat cara di atas). Biasanya, pada dasar 'chamber' diletakkan kertas tissue basah untuk mengurangi kehilangan uap air sampel. Secara perlahan-lahan aliran gas dari tabung silinder dialirkan. Pada setiap kenaikan, cairan yang keluar ditampung dalam sebuah pipa plastik kecil (panjang 8-10 cm, diameter 0,5 cm) yang telah lebih dahulu diisi dengan gulungan kertas tissue dan ditimbang. Sebaiknya kertas tissue berwarna biru atau merah muda untuk memudahkan pengecekan noda cairan yang tertampung. Perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut kemudian diplot terhadap setiap nilai resipokal 'balance pressure' yang diperoleh. Sumbu x menunjukkan berat atau volume cairan yang dikumpulkan, sedangkan sumbu y adalah kebalikan dari nilai potensial air (balance pressure) volume cairan tsb. Dalam 5-10 kali pengukuran, akan terbentuk kurva P-V.

Gambar 2 menunjukkan contoh kurva P-V. Untuk mendapatkan nilai potensial osmotik, sedikit-tidaknya harus diperoleh 3 titik (hubungan antara potensial air dan volume cairan) yang telah membentuk sebuah garis lurus pada segmen CC.

Bentuk dasar kurva P-V adalah konkav. Namun jika nilai tekanan turgor ($*F_p$) tidak lagi menunjang potensial air sel-sel ($Q\psi_{se}$), maka potensial air setara dengan potensial osmotik (Sinclair and Venables, 1983). Jika garis C'-C diekstrapolasi ke titik B pada sumbu y (yaitu jika $W_e = 0$; W_e adalah berat air simplastik yang diperoleh dari aplikasi tekanan), koordinat y pada titik B merupakan nilai resipokal inisial *potensial osmotik* dari air simplastik inisial (Tyree dan Hammel, 1972; Sinclair dan Venables, 1983). Kandungan air simplastik (W_e) adalah berat/ volume air yang mungkin dapat diekstrak dari sitoplasma dan vakuol.

Untuk mendapatkan nilai potensial osmotik, dapat dijelaskan dengan lebih detil.

$$\text{Karena } \Psi_{\pi} = \frac{RT.Ns}{W}$$

sedangkan $W = W_o - W_e$, R bilangan konstan gas, T suhu Kelvin dan Ns jumlah molekul solut,

$$\text{maka } \Psi_{\pi} = \frac{RT.Ns}{W_o - W_e}$$

Jika pada kondisi tekanan turgor penuh (yaitu jika $W_e = 0$), $\Psi_{\pi.o} = \frac{RT.Ns}{W_o}$

$$\text{maka } \Psi_{\pi} = \Psi_{\pi.o} \cdot \frac{W_o}{W_o - W_e}$$

$$\frac{1}{\Psi_{\pi}} = \frac{1}{\Psi_{\pi.o}} \cdot \frac{W_o - W_e}{W_o} = \frac{1}{\Psi_{\pi.o}} \cdot (1 - \frac{W_e}{W_o})$$

Dengan demikian, $P = -\Psi_{\pi}$.

Tekanan Turgor

Nilai tekanan turgor (Ψ_p) diperoleh dengan menggunakan persamaan $\Psi = \Psi_{\pi} + \Psi_p$ di mana Ψ adalah potensial air total, Ψ_{π} menunjukkan

Potensial air pada kondisi sel 'turgor loss point' (plasmolisis)

Nilai potensial air yang berhubungan dengan kondisi pada saat sel-sel mulai mengalami kehilangan turgor (*turgor loss point*) juga dapat diturunkan dari kurva P-V. Nilai ini penting dalam menginterpretasi ketahanan suatu spesies/varietas tumbuhan terhadap stres air dan garam. Pada Gambar 2, C merupakan titik di mana kurva P-V yang sebelumnya berbentuk non-linier, mulai beralih ke bentuk linier. Jika dari titik C diproyeksikan sebuah garis lurus ke sumbu y (titik E), maka tekanan PC pada titik pertemuan ini (1/P) merupakan nilai resiprokal dari potensial air di mana sel-sel mulai mengalami kehilangan turgor (Tyree dan Hammel, 1972; Sinclair dan Venables, 1983).

Terminologi

Beberapa istilah untuk menjelaskan aspek-aspek turunan dari komponen potensial air yang perlu diketahui dalam konsep kurva P-V dapat dikemukakan di bawah ini.

a. *Kandungan total air simplastik (symplastic water) pada kondisi tekanan turgor penuh* (masih pada Gambar 2), yaitu jumlah air total yang dapat diekstrak dari membran semipermeabel sel (sitoplasma dan vakuol) jika seluruh sel dalam kondisi turgor penuh (full turgor). Ini diperoleh dari ekstrapolasi garis lurus C-C (ingat, bahwa garis ini diperoleh secara eksperimental) ke sumbu x dan berpotongan pada titik D. Pada titik ini nilai resiprokal tekanan PC adalah nol ($1/P = 0$).

b. *Kandungan air total*, yaitu volume air keseluruhan yang mungkin dapat diekstrak dari jaringan/sel-sel sampel (dalam PC) yang sedang dipelajari. Untuk menentukan volume ini cukup dengan metode timbang-keringkan (*weighing and drying*).

c. *Kandungan air apoplastik (bound water)*. Kandungan air apoplastik adalah air yang menempati dinding sel (Slavik, 1974; Kramer, 1983), atau semua air yang tidak merupakan air simplastik. Air apoplastik meliputi air dalam rongga pembuluh xilem, traheid dan fiber (Tyree dan Jarvis, 1982).

Berat air apoplastik dapat dihitung dengan metode 'intercept' (Richter *et al.*, 1980) dengan rumus di bawah ini: $B_{aa} = (BB_{jar} - BK_{jar}) - W_o$, di mana B_{aa} adalah berat air apoplastik, BB_{jar} , berat basah jaringan dan BK_{jar} berat kering jaringan, sedangkan W_o berat air simplastik (kurva P-V).

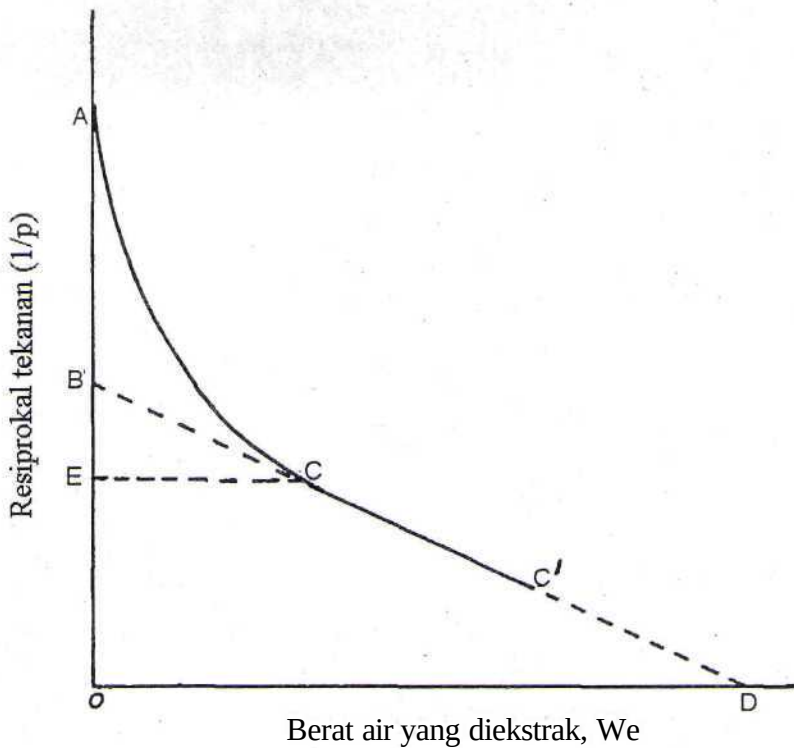
Keterbatasan PC

Dewasa ini teknik PC telah digunakan secara luas dan rutin dalam studi tentang hubungan air-tumbuhan (*Plant-Water Relations*) (Losch, 1986), terutama dalam keakuratan dan kemampuan memberikan beberapa informasi sekaligus dari satu sampel.



Gambar 1. Wujud fisik " Pressure Chamber" yang sedang dioperasikan, terdiri atas 3 komponen utama.

- :'.-•• A= "Chamber" untuk meletakkan sampel ',,
- B= Selang penyalur gas berdaya tahan tekanan tinggi
- C= Tabung silinder berisi gas tertekanan tinggi



Gambar 2. Tipikal kurva Pressure-Volume (P-V) yang menggambarkan hubungan antara perubahan potensial air total $Q\psi$ dengan volume sel/jaringan (tumbuhan) hidup (*Diadopsi dari Sinclair and Venables, 1983*).

Namun PC masih tetap memiliki beberapa keterbatasan. Pada sampel dalam kondisi sangat stres air (*drought*), mungkin terdapat rongga-rongga dalam xilem yang terbentuk oleh kolom air (Milburn, 1973), nilai "*balance pressure*" yang diperoleh bisa lebih tinggi (*overestimated*) dari kondisi sebenarnya sehingga nilai potensial air (*F) lebih negatif (West dan Gaff, 1976; Hardegree, 1989; Tyree dan Sperry, 1989).

Di samping itu, dalam teknik konstruksi kurva P-V, memakan waktu yang cukup lama (Tyree dan Jarvis, 1982). Satu sampel (terutama yang mengalami stres berat air/garam) dapat mencapai lebih dari 3 jam, sehingga dalam studi komparativa yang banyak menggunakan sampel, umur sampel mungkin akan mempengaruhi hasil pengukuran yang diturunkan dari kurva P-V. Selanjutnya lagi, sampel-sampel berupa jaringan muda tidak bisa digunakan misalnya seedling yang berusia 1 hingga 2 minggu. Perlengkapannya yang agak kompleks seperti tabung gas nitrogen bertekanan tinggi dan timbangan mikro (4 desimal) mengurangi nilai fleksibilitas dan portabilitasnya, yaitu agak sukar dibawa dalam studi fisiologi lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bennet-Clark TA, 1959.** Water relations of cells. Dalam: *Plant Physiology, A Treatise* 2, 105-192. FC Steward (Editor). Academic. New York.
- Boyer JS. 1967.** Water potential measured with a pressure chamber. *Plant Physiology* **42**, 133-37.
- Hardegree SP. 1989.** Xylem water holding capacity as a source of error in water deficit. *Annual Review of Plant Physiology* **33**, 163-203.
- Heelkvist J, Richards GP and Jarvis PG. 1974.** Vertical gradient of water potential and tissue water relations in sitka spruce trees " measured with the pressure chamber. *Journal of Applied Ecology* **11**, 637-667.
- Knippling EB. 1967.** Measurement of leaf water potential by the dye method. *Ecology* **48**, 1038-1041.
- Kramer PJ. 1983.** *Water Relations of Plants*. Academic Press, Orlando, pp. 46-50, 303-304.
- Losch R. 1989.** Plant water relations. Dalam: *Progress in Botany* **50**, 27-49.
- Milburn JA. 1973.** Cavitation studies on whole *Ricinus* by acoustic detection. *Planta* **112**, 333-342.
- Richter H, Duhme F, Glatzel G, Hincley TM and Karlic H. 1980.** Dalam: *Plants and their atmospheric environment*. J Grace, ED Ford and PG Jarvis (Editor). Blackwell. Oxford. Him. 263-272.
- Scholander PF, Hammel HT, Bradstreet ED and Hemmingsen EA. 1965.** Sap pressure in plants. *Science* **148**, 339-346.
- Sinclair R. and Venable WM. 1983.** An alternative method for analyzing pressure-volume curves produced with the pressure chamber. *Plant, Cell and Environment* **6**, 211-217.
- Slavik B. 1974.** *Methods of studying plant water relations*. Academic. Prague and Springer-Verlag. Berlin.
- Tyree MT and Hammel HT. 1972.** The measurement of turgor pressure and water relations of plants by the pressure-bomb technique. *Journal of Experimental Botany* **23**, 267-282.
- Tyree MT and Jarvis PG. 1982.** Water in tissues and cells. Dalam: *Physiological Plant Ecology II, Encyclopedia of Plant Physiology* **12**. OL Lange, PS Nobel, CB Osmond and H Ziegler (Editor). Springer-Verlag, Berlin, pp. 35-77.
- Tyree MT and Sperry JS. 1989.** Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology* **40**, 19-38.
- Waring RH and Clearly BD. 1967.** Plant moisture stress: evaluation by pressure bomb. *Science* **155**, 1248; 1253-1254.
- West DW and Gaff DF. 1976.** Xylem cavitation in excised leaves of *Malus sylvestris* Mill. And measurement of leaf water status with the pressure chamber. *Planta* **129**, 15-18.
- Zimmermann PE, Husken D dan Schulze E-D. 1980.** Direct turgor pressure measurement in individual leaf cells of *Tradescantia virginiana*. *Planta* **149**, 445-453.

Catatan:

- ✧ Laboratorium/Lembaga di mana terdapat alat Pressure Chamber:
Laboratorium Treub, Balitbang Botani-
Puslitbang Biologi-LIPI
- Nomor Depan: HPLC (High Performance Liquid Chromatography).