

Effects of Nano Fern Extract (*Diplazium esculentum*) and Humic Acid on Chlorophyll Content of Soybean (*Glycine max*)

Tita Nopiyanti*, Zozy Aneloi Noli, M. Idris

Program Studi Pascasarjana Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Indonesia;

Article History

Received : June 07th, 2026

Revised : June 22th, 2026

Accepted : July 04th, 2026

*Corresponding Author: **Tita Nopiyanti**, Program Studi Pascasarjana Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Indonesia.
Email: novy7325@gmail.com

Abstract: As the population continues to increase, the demand for soybeans in Indonesia is rising, necessitating effective strategies to enhance soybean growth and production. One such strategy is the use of biostimulants, including nano-fern extract and humic acid. This study aimed to evaluate the effects of different concentrations of nano-fern extract and humic acid, as well as their interaction, on the chlorophyll content and flowering time of soybeans. The experiment was conducted using a Factorial Completely Randomized Design (CRD) with two factors and six replications. Factor A (fern extract) consisted of a control, 100 mg/L of crude fern extract, and nano-fern extract at concentrations of 50, 100, and 150 mg/L. Factor B (humic acid) consisted of a control, 1200 mg/L, and 2500 mg/L. The results showed that the application of nano-fern extract at 150 mg/L and humic acid at 2500 mg/L resulted in higher chlorophyll content than other treatments.

Keywords: Biostimulant; Concentration; Fern extract; Humic acid; Soybean.

Pendahuluan

Kebutuhan kedelai di Indonesia semakin meningkat seiring bertambahnya jumlah penduduk. Mengingat permintaan kedelai yang terus meningkat pada setiap tahunnya, perlu dilakukan strategi untuk meningkatkan pertumbuhan dan produksi kedelai. Salah satunya melalui pemanfaatan biostimulan.

Biostimulan adalah zat yang diaplikasikan pada tanaman yang dapat meningkatkan efisiensi nutrisi, toleransi stress abiotik dan kualitas tanaman (du Jardin, 2015). Biostimulan dapat meningkatkan kerja fisiologis seperti respirasi, fotosintesis, sintesis asam nukleat dan penyerapan ion serta meningkatkan ketahanan tumbuhan terhadap cekaman biotik maupun abiotik (Van Oosten *et al.*, 2017).

Ekstrak tumbuhan memiliki kandungan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai biostimulan (Paelongan *et al*, 2023). Beberapa jenis tanaman yang sudah diteliti dan terbukti sebagai biostimulan diantaranya ekstrak

kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dapat meningkatkan tinggi tanaman kacang tanah (Ayumi, 2023) dan ekstrak paku resam (*Gleichenia linearis*) meningkatkan hasil dan kandungan protein tanaman cabai keriting Kopay (Noli & Labukti, 2022).

Paku-pakuan merupakan kelompok tanaman yang keragamannya sangat tinggi di Indonesia. Sejauh ini eksplorasi terhadap potensinya sebagai biostimulan masih belum banyak dilakukan. Salah satu jenis tanaman paku yang berpotensi sebagai biostimulan adalah pakis (*Diplazium esculentum*). Berdasarkan hasil dari penelitian Dilla (2024) ekstrak kasar pakis dengan konsentrasi 100 mg/L mampu meningkatkan semua parameter pertumbuhan dan hasil tanaman kedelai (*Glycine max*) dibanding tanpa pemberian ekstrak kecuali pada parameter berat basah dan berat kering.

Potensi tanaman pakis masih bisa ditingkatkan melalui aplikasi dalam formula nano. Nanopartikel yang berukuran 3 atau 5 nm dapat menembus akar melalui penyerapan pasif yang didorong oleh gaya kapiler,

tekanan osmotik dan sel-sel (Magnabosco *et al.*, 2023). Nanomaterial (NM) dalam bidang pertanian dapat meningkatkan pertumbuhan, perkembangan tanaman, kualitas pangan, produksi pangan serta mengurangi limbah penggunaan pupuk anorganik (Singh *et al.*, 2015).

Disamping aplikasi ekstrak tanaman sebagai biostimulan, diketahui bahwa kombinasi ekstrak tanaman dengan asam humat memberikan efek sinergis untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Asam humat merupakan hasil penguraian bahan organik yang memiliki ketahanan terhadap proses dekomposisi serta mempunyai karakteristik sebagai bahan koloid (Mollah *et al.*, 2020). Sehingga kombinasi ekstrak nano pakis dan asam humat dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan kadar klorofil. Tingginya kadar klorofil dapat meningkatkan proses fotosintesis hingga pertumbuhan dan produksi tanaman kedelai juga ikut meningkat.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada periode Mei 2025 hingga Agustus 2025 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Fasilitas Rumah Kaca, Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Andalas, Padang.

Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang melibatkan 2 faktor perlakuan dan 6 ulangan. Faktor A ekstrak pakis terdiri dari kontrol, 100 mg/L ekstrak kasar pakis, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L ekstrak nano pakis. Faktor B asam humat terdiri dari kontrol, 1200 mg/L dan 2500 mg/L asam humat

Alat dan bahan penelitian

Alat penelitian ini adalah hand spray, meteran, gelas ukur, batang pengaduk, timbangan analitik, polybag, kertas saring, oven, beaker glass, spektrofotometer, grinder, sentrifus, *ball mill* dan mortar. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih kedelai (*Glycine max*), pakis (*Diplazium*

esculentum), tanah Ultisol, pupuk KCl, pupuk urea, pupuk TSP, metanol dan aseton 80%.

Pembuatan simplisia pakis (*D. esculentum*)

Daun pakis dicuci bersih kemudian selama kurang lebih satu minggu. Setelah sampel kering selanjutnya dihaluskan dengan grinder hingga menjadi simplisia kasar. Ekstrak kasar dari pakis dihaluskan kembali menggunakan *ball mill* untuk mendapatkan simplisia berukuran nano

Pembuatan ekstrak pakis (*D. esculentum*)

Simplisia kasar dan nano pakis direndam oleh pelarut metanol. Didiamkan selama 2x24 jam. Setelah proses tersebut selesai, hasil ekstraksi dipisahkan dari residu melalui penyaringan. Filtrat yang diperoleh diproses menggunakan rotary evaporator hingga terbentuk ekstrak dengan konsistensi pekat. Ekstrak tersebut kemudian dilarutkan dengan aquades sesuai perlakuan.

Penanaman benih dan aplikasi ekstrak

Tanah Ultisol dibersihkan dari rumput kemudian dimasukkan ke dalam polybag. Benih yang sudah dipilih selanjutnya disemai sebanyak 3 benih dalam setiap polybag. Setelah tanaman sudah memasuki umur 7-10 hari setelah tanam dilakukan seleksi pertumbuhan dengan menyisakan satu tanaman yang memiliki pertumbuhan yang lebih optimal. Pemberian ekstrak dilakukan berdasarkan konsentrasi yang telah ditetapkan pada masing-masing perlakuan. Aplikasi pemberian perlakuan dimulai pada 2 Minggu Setelah Tanam (MST) hingga tanaman berada pada tahap akhir pertumbuhan vegetatif, dengan frekuensi pemberian satu kali dalam periode 14 hari.

Pengujian kadar klorofil

Pengukuran klorofil dilakukan 2 minggu setelah aplikasi biostimulan. sampel daun muda sebanyak 0,2 gr dihaluskan kemudian dihomogenisasi dengan 80% aseton 20 ml. selanjutnya ekstrak disentrifugasi selama 15 menit untuk memisahkan natan dan supernatant. Kemudian dilakukan analisis klorofil sampel diukur dengan spektrometer panjang gelombang 663; 645; 480 nm. Kandungan klorofil (mg/g) dihitung dengan metode Arnon dengan rumus berikut:

$$\text{Klorofil a} = \frac{[(12.7 + A_{663}) - (2.69 \times A_{645})] \frac{V}{1000 \times W}}{100 \times W}$$

$$\text{Klorofil b} = \frac{[(22.9 + A_{645}) - (4.68 \times A_{663})] \frac{V}{1000 \times W}}{100 \times W}$$

$$\text{Klorofil total} = \frac{[(20.2 + A_{645}) - (8.02 \times A_{663})] \frac{V}{1000 \times W}}{100 \times W}$$

Keterangan:

A : Nilai absorbansi pada panjang gelombang 645 nm dan 663 nm
V : Volume aseton yang dipakai
W : Massa sampel daun yang dipakai

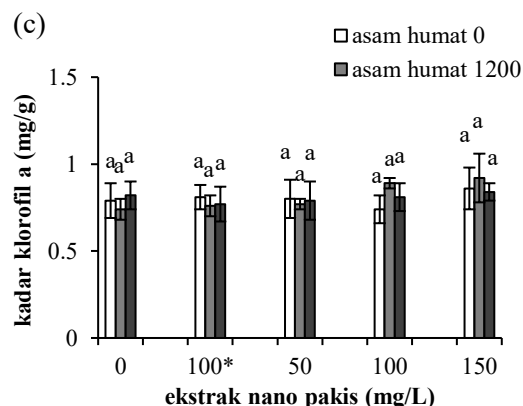
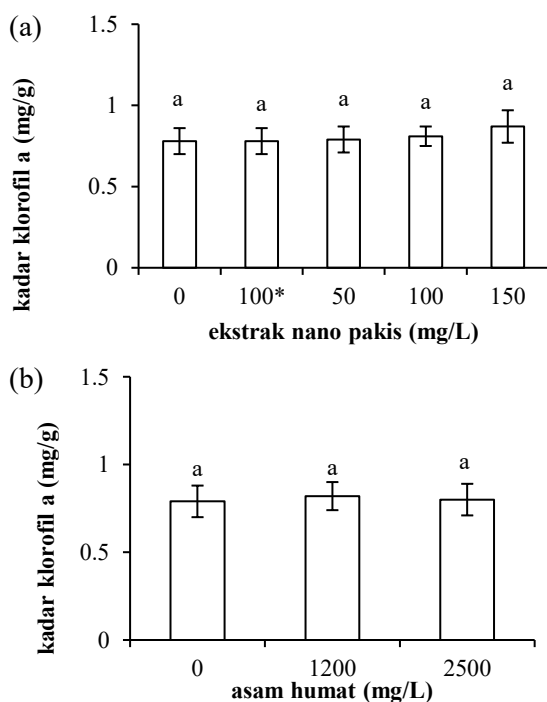
Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA). Apabila hasil menunjukkan adanya perbedaan nyata antar perlakuan, maka pengujian dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) pada taraf signifikansi 5%.

Hasil dan pembahasan

Kadar klorofil a

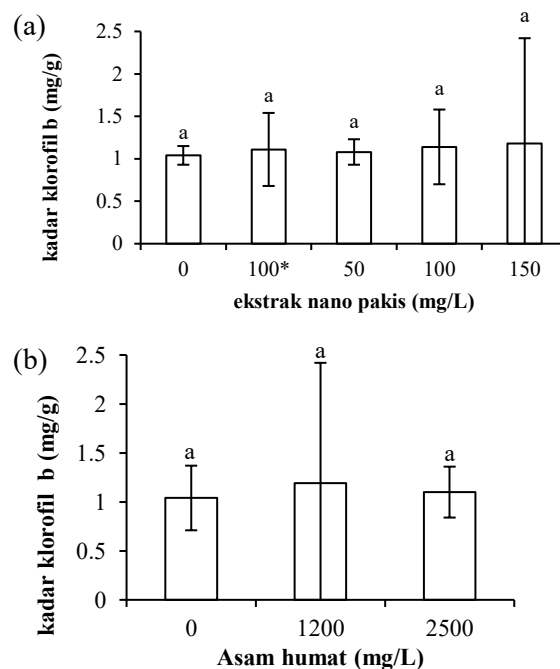
Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pemberian berbagai konsentrasi ekstrak nano pakis dan asam humat, serta interaksi antara keduanya, tidak berpengaruh nyata terhadap kadar klorofil a tanaman kedelai. Rata-rata jumlah klorofil a pada tanaman kedelai yang diberi beberapa konsentrasi ekstrak nano pakis dan asam humat disajikan pada Gambar 1.

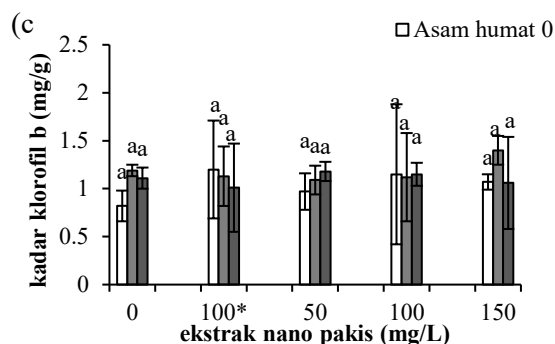


Gambar 1. Rata-rata kadar klorofil a tanaman kedelai 28 HST setelah diberi beberapa konsentrasi ekstrak nano pakis dan asam humat. Grafik memperlihatkan hasil kadar klorofil a tanaman kedelai (a) faktor ekstrak nano pakis (b) faktor ekstrak asam humat (c) faktor interaksi ekstrak nano pakis dan asam humat. Tanda (*) pada 100 merupakan indikasi ekstrak yang digunakan adalah ekstrak kasar. Data merupakan rata-rata $\pm$ SE, $n=6$.

Kadar klorofil b

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pemberian berbagai konsentrasi ekstrak nano pakis dan asam humat, serta interaksi antara keduanya, tidak berpengaruh nyata terhadap kadar klorofil b tanaman kedelai. Rata-rata jumlah klorofil b pada tanaman kedelai yang diberi beberapa konsentrasi ekstrak nano pakis dan asam humat disajikan pada Gambar 2.

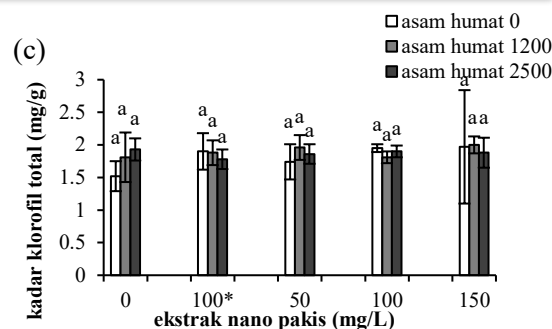
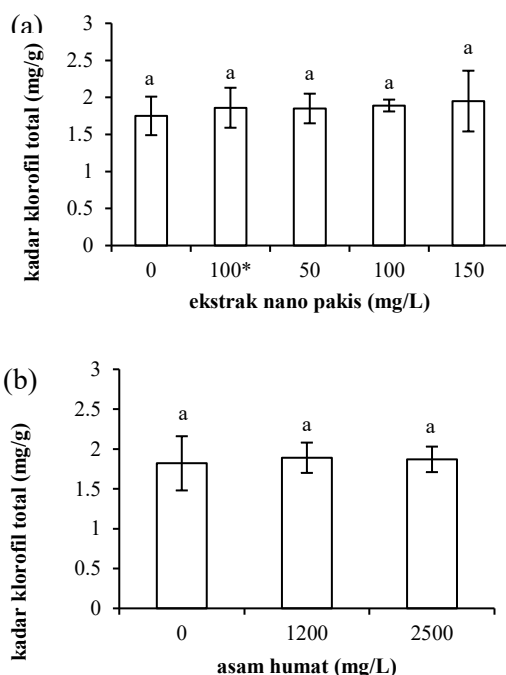




Gambar 2. Rata-rata kandungan klorofil b tanaman kedelai 28 HST sebagai respon terhadap pemberian berbagai perlakuan ekstrak nano pakis dan asam humat. Grafik memperlihatkan hasil kandungan klorofil b tanaman kedelai (a) faktor ekstrak nano pakis (b) faktor ekstrak asam humat (c) faktor interaksi ekstrak nano pakis dan asam humat. Tanda (*) pada 100 merupakan indikasi ekstrak yang digunakan adalah ekstrak kasar. Data merupakan rata-rata $\pm$ SE, n= 6.

Kadar klorofil total

Hasil analisis statistik, aplikasi ekstrak nano pakis dan asam humat pada berbagai tingkat konsentrasi, baik diberikan secara terpisah maupun dalam kombinasi keduanya, tidak menimbulkan perbedaan yang signifikan terhadap kandungan klorofil total pada tanaman kedelai. Rata-rata jumlah klorofil total pada kedelai yang diberi beberapa konsentrasi ekstrak nano pakis dan asam humat disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Rata-rata kandungan klorofil total tanaman kedelai 28 HST sebagai respon terhadap pemberian berbagai perlakuan ekstrak nano pakis dan asam humat. Grafik memperlihatkan hasil kandungan klorofil total tanaman kedelai (a) faktor ekstrak nano pakis (b) faktor ekstrak asam humat (c) faktor interaksi ekstrak nano pakis dan asam humat. Tanda (*) pada 100 merupakan indikasi ekstrak yang digunakan adalah ekstrak kasar. Data merupakan rata-rata $\pm$ SE, n= 6.

Pembahasan

Perlakuan ekstrak nano pakis dan asam humat serta interaksi keduanya tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan secara statistik. Namun, perlakuan tunggal ekstrak nano pakis dengan konsentrasi 150 mg/l dan asam humat 1200 mg/L memberikan hasil cenderung lebih tinggi dalam meningkatkan rata-rata klorofil a, b dan total dibandingkan perlakuan kontrol. sedangkan untuk kombinasi ekstrak nano pakis dan asam humat cenderung meningkatkan klorofil a, b dan total yaitu pada konsentrasi 150 mg/L dan 1200 mg/L.

Ekstrak nano pakis diduga dapat meningkatkan penyerapan biostimulan tanaman, sehingga berpotensi mendukung peningkatan jumlah klorofil pada kedelai. Ekstrak dalam ukuran nano berpotensi mengoptimalkan efisiensi fotosintesis dan kandungan klorofil tanaman, ekstrak nano *Padina minor* lebih efisien meningkatkan kadar klorofil dibanding ekstrak kasarnya (Shayen *et al.*, 2023). Noli & Labukti (2022) melaporkan bahwa aplikasi ekstrak paku resam (*Gleichenia linearis*) konsentrasi 100 mg/L memberi pengaruh terhadap kandungan klorofil a, sedangkan pada klorofil a dan klorofil b tidak signifikan.

Asam humat dengan konsentrasi 35 mg/L yang diaplikasikan melalui daun dapat berkontribusi terhadap peningkatan kadar klorofil a, b, maupun kandungan klorofil total tanaman kangkung (Rahmandhias & Rachmawati, 2020).

Pemberian biostimulan dan unsur hara yang tetap lebih efisien disesap jaringan tanaman sehingga dapat meningkatkan kandungan klorofil. Pemberian bahan organik dapat berperan dalam meningkatkan ketersediaan unsur hara di tanah sehingga mendukung kebutuhan nutrisi tanaman. Unsur hara yang mencukupi akan membantu pembentukan klorofil, sehingga mendukung berlangsungnya proses fotosintesis secara efisien yang dipengaruhi oleh keberadaan cahaya matahari (Rasyidi *et al.*, 2024).

Kandungan klorofil dapat digunakan sebagai salah satu parameter fisiologis untuk menggambarkan aktivitas fotosintesis pada tanaman. pembentukan klorofil sangat berkaitan dengan ketersediaan unsur hara tertentu didalam tanaman. Nitrogen (N) memiliki peran penting dalam proses sintesis klorofil, sedangkan Magnesium (Mg) berfungsi sebagai atom pusat penyusunan molekul klorofil serta berperan dalam proses transfer energi (Adisti *et al.*, 2023). Kandungan pigmen hijau pada daun memiliki variasi antar tanaman maupun antar bagian daun yang dipengaruhi oleh karakter visual daun tersebut. Intensitas warna hijau pada daun dapat menjadi gambaran tingkatan keberadaan klorofil pada jaringan tanaman (Dharmadewi, 2020). Kandungan klorofil cenderung meningkat pada tahap vegetatif kemudian menurun saat memasuki tahap generatif (Wahyuni *et al.*, 2023).

Kesimpulan

Aplikasi ekstrak nano pakis dan asam humat, baik secara tunggal maupun interaksi keduanya, tidak signifikan terhadap kandungan klorofil a, b, dan total. Namun, perlakuan tunggal ekstrak nano pakis 150 mg/L dan asam humat 1200 mg/L serta kombinasi antara keduanya mengindikasikan adanya peningkatan kadar klorofil a, b, dan total pada kedelai.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi, baik secara langsung atau tidak langsung, dalam membantu proses pelaksanaan penelitian ini hingga selesai.

Referensi

- Adisti, J. P., Suwirmen & Idris, M. (2023). Pengaruh Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Ubr.) Dengan Beberapa Jenis Pelarut Sebagai Biostimulan Terhadap Pertumbuhan Sawi pagoda (*Brassica rapa* var. *narinosa* L.). *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 11(1), 54-61. <https://doi.org/10.25077/jbioua.11.1.54-61.2023>
- Ayumi, T. S., Zakiah, Z. & Linda, R. (2023). Potensi Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) Sebagai Biostimulan Terhadap Perkecambahan Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.). *Protobiont*, 12(1), 28-33. <https://doi.org/10.26418/protobiont.v12i1.68666>
- Dharmadewi, A. A. I. M. (2020). Analisis Kandungan Klorofil Beberapa Jenis Sayuran Hijau Sebagai Alternatif Bahan Dasar Food Supplement. *Jurnal Emasains*, 9(2), 171-176. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4299383>
- Dilla, A. I. (2024). *Pengaruh Ekstrak Kasar Beberapa Jenis Paku Sebagai Biostimulan Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Kedelai (Glycine max (L.) Merr.)*. Tesis, Universitas Andalas. Universitas Andalas
- Du Juardin, P. (2015). Plant Biostimulan: Definition, Concept, Main Categories and Regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- Magnabosco, P., Masi, A., Shukla, R., Bansal, V. & Carletti, P. (2023). Advancing the impact of plant biostimulants to sustainable agriculture through nanotechnologies. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 10(117), 1-25. <https://doi.org/10.1186/s40538-023-00491-8>
- Mollah, A., Iswoyo, H. & Reskiana, N. (2020). Application of humic acid and guano on sugarcane seedlings with bud stepropagation method. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Sciences*, 575(012193), 1-7.

- <https://doi.org/10.1088/1755-1315/575/1/012193>
- Noli, Z. A. & Labukti, H. V. (2020). Pengaruh Ekstrak Paku Resam (*Gleichenia linearis*) sebagai Biostimulan terhadap Pertumbuhan dan Hasil Cabai Keriting (*Capsicum annum* L.) Kultivar Kopay. *Agro Bali Agricultural Journal*, 3(5), 492-497.
<https://doi.org/10.37637/ab.v5i3.999>
- Paelongan, A. H., Malau, K. M. & Semahu, L. H. (2023). Pengaruh Ekstrak Bawang Merah (*Allium cepa* L.) sebagai Zat Pengatur Tumbuh pada Benih Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Agro Industri Perkebunan*, 11(3), 185-196.
<https://doi.org/10.25181/jaip.v11i3.3013>
- Rahmandhias, D. T. & Rachmawati, D. (2020). Pengaruh Asam Humat terhadap Produktivitas dan Serapan Nitrogen pada Tanaman Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(2), 316-322.
<http://journal.ipb.ac.id/index.php/JIPI>
- Rasyidi, A. F., Sulistiani, R. & Jalani, S. I. B. (2024). Kadar Klorofil Daun Bibit Kelor (*Moringa oleifera* L.) Pada Berbagai Dosis Kompos. *Agrium*, 27(1), 33-43.
<https://doi.org/10.30596/agrium.v27i1.17486>
- Shayen, M. P., Noli, Z. A., Maideliza, T. dan Suwirmen. (2023). Pengaruh Aplikasi Nanobiostimulan Rumput Laut (*Padina minor* Yamada) Terhadap Kadar Klorofil Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.). *Bioscientist*, 11(2), 1176-1185.
<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v11i2.9063>
- Singh, A., Singh, N. B., Hussain, I., Singh, H. & Singh, S. C. (2015). Plant-nanoparticle Interaction: An Approach to Improve Agricultural Practices and Plant Productivity. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 4(8), 25-40.
[https://www.ijpsi.org/Papers/Vol4\(8\)/E0480025040.pdf](https://www.ijpsi.org/Papers/Vol4(8)/E0480025040.pdf)
- Van Oosten, M. J., Pepe, O., De Pascale, S., Silletti, S. dan Maggio, A. (2017). The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 4(5), 1-12.
<https://doi.org/10.1186/s40538-017-0089-5>
- Wahyuni, A., Zakiah, Z. & Mukarlina. (2023). Pertumbuhan Sawi pakchoy (*Brassica rapa* L.) pada Media Hidroponik Sistem sumbu Setelah Pemberian Biostimulan Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* L.). *Protobiont*, 12(1), 14-21.
<https://doi.org/10.26418/protobiont.v12i1.66752>