

**KAJIAN EFEK *POLY ETHYLENE GLYKOL* (PEG) 6000 TERHADAP
CEKAMAN KEKERINGAN PLANLET KEDELAI
(*Glycine max* (L.) Merrill) VARIETAS TANGGAMUS SECARA *IN VITRO***

(Skripsi)

Oleh

ASRI RAHAYU PRATIWI



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2016**

ABSTRAK

KAJIAN EFEK *POLY ETHYLENE GLYKOL* (PEG) 6000 TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN PLANLET KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merrill) VARIETAS TANGGAMUS SECARA *IN VITRO*

Oleh

ASRI RAHAYU PRATIWI

Kedelai merupakan salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan olahan makanan. Penurunan produksi kedelai di dalam negeri disebabkan salah satunya yaitu adanya cekaman kekeringan. Kondisi cekaman kekeringan secara *in vitro* dapat disimulasi dengan menurunkan potensial air medium, yaitu dengan penambahan *Poly Ethylene Glykol* (PEG) 6000. Varietas kedelai yang digunakan dalam penelitian adalah varietas Tanggamus. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kisaran konsentrasi PEG 6000 yang toleran terhadap cekaman kekeringan untuk seleksi planlet kedelai dengan pertumbuhan optimum serta mengetahui dan menganalisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet kedelai yang mengalami cekaman kekeringan meliputi; kandungan klorofil a, klorofil b, klorofil total, dan kandungan karbohidrat. Penelitian dilaksanakan dari bulan Desember 2015 – Februari 2016 di Ruang *In Vitro*, Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian ini menggunakan medium *Murashige* dan *Skoog* (MS) dengan konsentersasi PEG 6000 yaitu 20%, 40%, 60% dan (0%). Rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 ulangan. Data analisis menggunakan analisis ragam dan uji lanjut dengan Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kisaran konsentersasi PEG 6000 toleran terhadap seleksi planlet kedelai yaitu 20% - 60%. Karakter ekspresi pengaruh PEG 6000 terhadap kandungan karbohidrat pada planlet kedelai mengalami peningkatan secara nyata dibandingkan dengan kontrol. Kandungan klorofil a, b dan total pada daun planlet kedelai mengalami penurunan secara nyata, semakin tinggi konsentrasi PEG 6000 maka semakin menurun kandungan klorofil a, b dan total pada daun planlet kedelai.

Kata kunci: Kedelai, PEG 6000, cekaman kekeringan, *in vitro*

KAJIAN POLY ETHYLENE GLYKOL (PEG) 6000 TERHADAP KETAHANAN STRESS
KEKERINGAN KEDELAI (*Glycine max* L. Merr) VARIETAS TANGGAMUS SECARA
IN VITRO

Oleh

Asri Rahayu Pratiwi

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar

SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Penmgetahuan Alam



UNIVERSITAS LAMPUNG

BANDAR LAMPUNG

2015

Judul Skripsi : **KAJIAN EFEK *POLY ETHYLENE GLYKOL (PEG)* 6000 TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN PLANLET KEDELAI (*Glycine max (L.) Merill*) VARIETAS TANGGAMUS SECARA *IN VITRO***

Nama Mahasiswa : **Asri Rahayu Pratiwi**

No. Pokok Mahasiswa : 1217021015

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

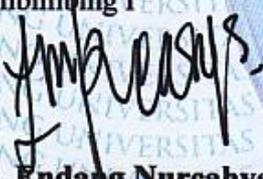


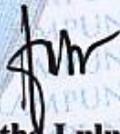
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

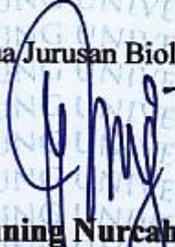
Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.
NIP 19651031 199203 2 003


Dra. Martha Lulus Lande, M.P.
NIP 19560813 198511 2 001

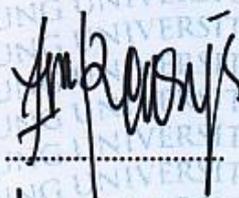
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA


Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 19660306 199103 2 001

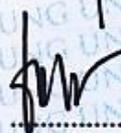
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

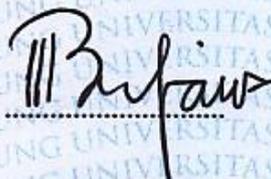
Ketua : Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.



Sekretaris : Dra. Martha Lulus Lande, M.P.



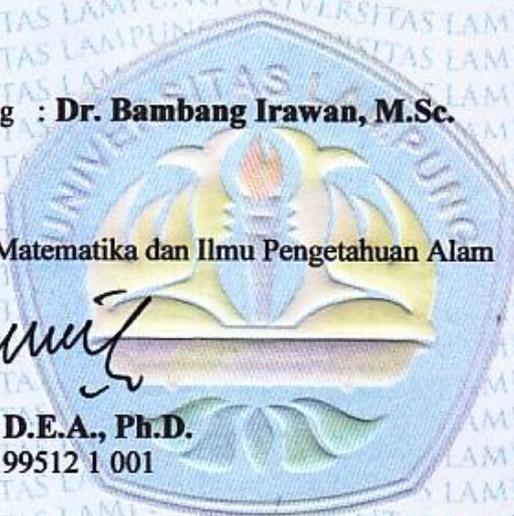
**Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Bambang Irawan, M.Sc.**



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Prof. Warsito, D.E.A., Ph.D.

NIP 19710212 199512 1 001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 19 Mei 2016

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Kotabumi, Lampung Utara 22 tahun silam pada tanggal 02 September 1993 sebagai anak ketiga dari tiga bersaudara, dari Alm Bapak Imam Sugiyo dan Ibu Mis'ah.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di TK PG Bungamayang dan menyelesaikannya pada tahun 2000, selanjutnya penulis menempuh pendidikan dasar di SD YP PG Bungamayang dan menyelesaikannya tahun 2006, pendidikan tingkat menengah hingga tahun 2009 di SMP YP PG Bungamayang. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMA YP UNILA Bandar Lampung dan menyelesaikannya tahun 2012. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung melalui jalur Ujian Mandiri (UM).

Selama menempuh pendidikan di kampus Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah kultur jaringan. Selain itu penulis juga aktif di dunia organisasi kampus.

Aktifitas organisasi penulis dimulai sejak menjadi Amar Rois FMIPA Unila dan Anggota Muda Biologi (Amuba) tahun 2012–2013. Selanjutnya penulis pernah di

Rohani Islam (Rois) FMIPA Unila sebagai anggota kaderisasi dan di Himpunan Mahasiswa Biologi (Himbio) FMIPA Unila sebagai anggota Kesekretariatan dan Pengembangan Diri 2013-2014. Penulis juga aktif di organisasi eksternal kampus seperti FKAR (Forum Kerjasama Alumni Rohis) dan sebagai TKS SMA YP UNILA.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Pesisir Barat Kecamatan Ngambur Pekon Pekon Mon dari bulan Juli - September 2015. Pada bulan Juni - Juli 2015 Penulis melaksanakan Kerja Praktik di BPTP Kebun percobaan Natar Lampung dengan judul **“Studi Teknik Pengukuran Variabel – Variabel Pertumbuhan Vanili (*Vanilla planifolia*) di Kebun Percobaan BPTP Natar Lampung”**. Penulis melaksanakan penelitian di Laboratorium Botani ruang *In Vitro* Jurusan Biologi pada bulan Desember 2015 sampai Februari 2016.

PERSEMBAHAN



Segala puji hanya milik ALLAH SWT, yang telah memberikan segala kenikmatan, Shalawat serta salam terlimpah kepada Nabi Muhammad SAW, sehingga karya ini dapat terselesaikan, :

Bapak (alm Imam Sugiyo) yang semasa hidupnya selalu memberikan semangat dukungan yang tiada henti dan Ibu (Mis'ah) yang telah memberikan cinta dan kasih sayangnya serta doa yang tak putus-putusnya, selalu memberikan semangat dan mengajarkan untuk menjadi pribadi yang kuat

Kedua kakak perempuanku yang terus memberi dukungan dan memotivasiku untuk terus berkarya

Para guru dan dosen yang telah medidik dan mengajariku hingga hari ini dengan dedikasi dan keikhlasanya

Sahabat-sahabatku, rekan-rekan seperjuanganku para perindu syurga yang banyak memberikan pengalaman berharga, yang selalu ada untuk saling mengingatkan dan saling menguatkan

Dan untuk seseorang yang telah Allah siapkan yang kelak akan menjadi pelengkap dalam hidup ini

Almamaterku tercinta.



MOTO

Ketahuilah hanya dengan mengingat Allah hati menjadi tenang (QS. Ar-Ra'd: 28)

Cukuplah Allah menjadi Penolong kami dan Allah adalah sebaik-baik Pelindung (QS. Ali 'Imran: 173)

Segala persoalan dalam hidup ini sesungguhnya tidak untuk menguji kekuatan dirimu, tetapi menguji seberapa besar kesungguhanmu dalam meminta pertolongan Allah

(Ibnul Qayyim)

SANWACANA

Puji syukur kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, limpahan karunia serta limpahan nikmat-Nya yang tak terhitung hingga hari ini sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“Kajian Efek *Poly Ethylene Glykol* (PEG) 6000 Terhadap Cekaman Kekeringan Planlet Kedelai (*Glycine Max* (L.) Merill) Varietas Tanggamus Secara *In Vitro*”**

Shalawat teriring salam semoga tercurahkan kepada Rasulullah SAW beserta keluarga dan sahabat serta umatnya di akhir zaman, Aamiin.

Dengan terselesaikannya skripsi ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang tinggi kepada :

1. Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si. selaku Pembimbing Utama yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran, memberikan arahan, saran, serta motivasi dalam membimbing penulis dalam penelitian hingga terselesainya skripsi ini.
2. Ibu Dra. Martha Lulus Lande, M.P. selaku pembimbing kedua atas dedikasi, arahan, saran dan semangat kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.

3. Bapak Dr. Bambang Irawan, M.Sc. selaku Pembahas atas segala bimbingan, motivasi, saran, serta semangat kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.
4. Bapak Dr. G. Nugroho Susanto, M.Sc. selaku Pembimbing Akademik atas bimbingan, kritik, dan sarannya kepada penulis dalam menempuh pendidikan di Jurusan Biologi.
5. Kepala Laboratorium Botani, Jurusan Biologi FMIPA Unila beserta seluruh staf teknisi, yang telah memberikan izin, fasilitas, dan bantuannya selama penulis melakukan penelitian.
6. Ketua Jurusan Biologi FMIPA, Dekan FMIPA, dan Rektor Universitas Lampung.
7. Bapak Ibu Dosen yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, terimakasih atas bimbingan dan ilmu yang sudah diberikan selama penulis melaksanakan studi di Jurusan Biologi.
8. Sahabat seperjuangan penelitian kultur jaringan Aul, Lulu, Imamah, Jevica, Abdi dan mbak Gardis. Kakak-kakak penelitian mba Christi, mba Eka, kak Sobran, Kak Adi, mba Linda, dan mba Rita Terimakasih untuk semua kerjasama, kebersamaan, semangat, saran dan kritik serta doanya selama menjalani penelitian.
9. Kedua orangtuaku Bapak alm Imam Sugiyo terimakasih selama masa hidupmu telah membimbing, mengajari dan memberikan dukungan. Dengan selalu mengingatmu menjadi acuan semangat penulis untuk bisa menyelesaikan karya

ini. Ibu Mis'ah yang telah memberikan seluruh tenaga, pikiran, semangat dukungan serta doa yang tiada hentinya, dan nasehat-nasehat sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.

10. Kedua kakak perempuanku Evi Wiliyanti S.Si dan Irma Puspitasari S.IP, Kedua kakak iparku G. Sapta Nugraha S.Kom dan Julhaidir, keponakan tercinta Syahmi, Zufar, Mahira dan Syafiqa serta seluruh keluarga besar terimakasih atas semangat, dukungan serta doanya untuk penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

11. Sahabat terbaik semasa kuliah Kasmita, Lia, Ria Aulia, Try Larasati dan Etika terimakasih atas kebersamaan selama ini dari awal masuk perkuliahan hingga akhir selalu ada untuk penulis.

12. Sahabat seperjuangan angkatan Biologi 2012 yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terimakasih atas kebersamaan, dukungan serta doanya selama ini.

13. Kakak tingkat Biologi 2010, 2011, adik-adik tingkat 2013, 2014, 2015, dan seluruh Wadya Ballad HIMBIO yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih kebersamaan dan pembelajaran yang sangat berarti bagi penulis.

14. Keluarga besar KKN Pesisir Barat Pekon Pekon Mon dan kelompok KKN Desi Retno, Rema, Merie, Audi, Desi Purnama, Andref, Abo dan Kak Isro terimakasih untuk pengalaman, pembelajaran serta kebersamaan.

15. Seluruh Keluarga Besar ROIS FMIPA UNILA 2013-2014 dan Superteam kaderisasi ROIS FMIPA UNILA yang tidak bisa disebutkan satu- persatu,

terimakasih atas ukhuwah yang selalu ada untuk saling mengingatkan dan menguatkan.

16. Saudara seperjuangan tim ngeringkel, Keluarga besar dakwah sekolah ROHIS SMA YP UNILA, FORKAPMI 2011, TKS SMA YP UNILA, FKAR
terimakasih atas kerjasama yang terjalin selama ini.

17. Sahabat-sahabatku Uti, Ratih, Syaripeh, Utary, Vinni dan sahabat- sahabat kecilku dari Yayasan PG Bungamayang, Kotabumi Lampung Utara.

18. Almamater Tercinta.

Akhir kata, Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan kesalahan yang jauh dari kesempurnaan dalam penulisan ini, akan tetapi besar harapan semoga hasil tulisan ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, Juni 2016

Penulis,

Asri Rahayu Pratiwi

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHKAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
PERSEMBAHAN	vi
MOTO	vii
SANWACANA	viii
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang dan Masalah	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Manfaat Penelitian	4
D. Kerangka Pemikiran	5
E. Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tanaman Kedelai	7
B. Nilai Ekonomi Kedelai	10
C. Cekaman Kekeringan	14
D. Kultur <i>In Vitro</i>	15
E. <i>Poly Ethylene Glycol</i>	16
F. Biosintesis Klorofil	18

G. Kandungan Karbohidrat	22
III. METODE PENELITIAN.....	25
A. Waktu dan Tempat	25
B. Alat dan Bahan	25
C. Rancangan Percobaan	26
D. Bagan Alir	27
E. Pelaksanaan	29
1. Sterilisasi alat	29
2. Persiapan Medium Tanam	29
3. Persiapan Medium Seleksi	30
4. Persiapan dan Sterilisasi	30
5. Pengamatan	31
a. Persentase Jumlah Planlet yang Hidup	31
b. Visualisasi Planlet	31
c. Analisis Kandungan Klorofil	31
d. Analisis Kandungan Karbohidrat.....	32
f. Analisis Data	33
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
A. Seleksi Planlet Kedelai dengan <i>Poly Ethylene Glycol</i> (PEG) 6000	35
B. Persentase Jumlah Planlet Hidup dan Visualisasi Planlet	36
C. Kandungan Klorofil	40
a. Kandungan Klorofil a	40
b. Kandungan Klorofil b	42
c. Kandungan Klorofil total	43
D. Kandungan Karbohidrat	46
V. SIMPULAN DAN SARAN	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Deskripsi Varietas Tanggamus	13
2. Tata letak satuan percobaan	27
3. Persentase Jumlah Planlet Hidup	36
4. Persentase dan Visualisasi planlet	36
5. Kandungan klorofil a planlet kedelai dengan penambahan berbagai konsentrasi PEG 6000.....	40
6. Kandungan klorofil b planlet kedelai dengan penambahan berbagai konsentrasi PEG 6000.....	42
7. Kandungan klorofil total planlet kedelai dengan penambahan berbagai konsentrasi PEG 6000.....	44
8. Kandungan karbohidrat planlet kedelai dengan penambahan berbagai konsentrasi PEG 6000.....	46
9. Komposisi medium <i>Murashige</i> dan <i>scoog</i> (MS).....	57
10. Analisis Ragam <i>single factor</i> kandungan klorofil a, b dan total Planlet Kedelai	59
11. Analisis Ragam <i>single factor</i> kandungan karbohidrat planlet kedelai	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Perkembangan produksi kedelai	12
2. Biji kedelai varietas Tanggamus	12
3. Struktur PEG	17
4. Struktur Klorofil a dan b	22
5. Bagan alir penelitian	28
6. Planlet kedelai yang ditanam pada medium MS yang ditambahkan PEG 6000 berbagai konsentrasi minggu I	35
7. Pertumbuhan planlet kedelai setelah 4 minggu perlakuan pemberian konsentrasi PEG 6000	38
8. Kurva regresi hubungan kandungan klorofil a planlet kedelai dengan penambahan PEG berbagai konsentrasi	41
9. Kurva regresi hubungan kandungan klorofil b planlet kedelai dengan penambahan PEG berbagai konsentrasi	43
10. Kurva regresi hubungan kandungan klorofil total planlet kedelai dengan penambahan PEG berbagai konsentrasi	45
11. Kurva regresi hubungan kandungan karbohidrat planlet kedelai dengan penambahan PEG berbagai konsentrasi	47
12. Histogram perbandingan kandungan klorofil a planlet kedelai dengan penambahan PEG berbagai konsentrasi	61
13. Histogram perbandingan kandungan klorofil b planlet kedelai dengan penambahan PEG berbagai konsentrasi	61
14. Histogram perbandingan kandungan klorofil total planlet kedelai dengan penambahan PEG berbagai konsentrasi	62
15. Histogram perbandingan kandungan karbohidrat planlet kedelai dengan berbagai konsentrasi PEG	62

16. Medium MS Steril.....	63
17. Penanaman biji kedelai	63
18. Biji kedelai yang ditanam pada medium MS	64
19. Penimbangan daun planlet analisis klorofil	64
20. Pembuatan ekstraksi daun planlet kedelai analisis klorofil	65
21. Larutan ekstraksi daun planlet kedelai.....	65
22. Uji kandungan klorofil menggunakan spektrofotometer	66
23. Pembuatan ekstraksi daun planlet kedelai analisis karbohidrat	66
24. Pengerjaan Analisis Kandungan Karbohidrat	67
25. Larutan karbohidrat planlet kedelai	67
26. Uji spektrofotometer kandungan karbohidrat	67

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang dan Masalah

Kedelai merupakan tanaman sumber protein yang murah, dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan gizi masyarakat. Kebutuhan terhadap kedelai semakin meningkat sejalan dengan bertambahnya penduduk dan dapat meningkatkan kesadaran masyarakat terhadap makanan berprotein nabati. Produksi kedelai pada tahun 2011 sebesar 819,45 ribu ton biji kering, menurun sebanyak 87,59 ribu ton (9,66%) dibandingkan tahun 2010. Penurunan produksi kedelai yang diperkirakan terjadi karena turunnya luas panen yaitu seluas 68,79 ribu hektar (10,41%), sedangkan produktivitas kedelai mengalami kenaikan sebesar 0,11 kuintal/ha atau 0,80% (Giono dkk., 2014).

Sementara itu, produksi kedelai tahun 2014 diperkirakan sebanyak 921,34 ribu ton biji kering atau meningkat sebanyak 141,34 ribu ton (18,12%) dibandingkan tahun 2013. Peningkatan produksi kedelai terjadi di Pulau Jawa sebanyak 73,47 ribu ton dan luar Pulau Jawa sebanyak 67,87 ribu ton. Peningkatan ini lantaran kenaikan luas panen 61,01 ribu hektar (11,06%) dan kenaikan produktivitas sebesar 0,90 kuintal/hektar (6,36%) (Anonymous, 2014).

Kedelai sudah lama dimanfaatkan sebagai bahan dasar makanan dan minuman, seperti tempe, tahu, kecambah, susu kedelai dan lain-lain. Selain itu kedelai juga mempunyai kandungan gizi yang cukup tinggi dan dapat dijadikan sebagai bahan pangan fungsional untuk mencegah dan mengobati penyakit (Cahyadi, 2007). Namun jika produksi kedelai yang ada di Indonesia tidak sesuai dengan tingkat kebutuhan maka kita akan terus mengimpor kedelai dalam jumlah yang sangat besar.

Produksi kedelai di dalam negeri belum mampu memenuhi kebutuhan yang terus meningkat, produksi kedelai hanya mampu memenuhi sekitar 30% konsumsi domestik, sedangkan sisanya harus diperoleh melalui import 2,08 juta ton per tahun (Giono dkk., 2014).

Cekaman kekeringan merupakan salah satu faktor penyebab menurunnya produksi kedelai di Indonesia. Hal itu dapat berpengaruh negatif karena akan menyebabkan terjadinya penurunan hasil kedelai yang akan dipanen. Seperti menurunkan ukuran biji, jumlah polong dan berat kering polong, menurunkan indeks luas daun dan kandungan klorofil daun serta menurunkan kualitas biji (Widoretno, 2003).

Tanaman memiliki mekanisme untuk memberi respon pada pengaruh cekaman yang merusak dengan skala waktu yang berbeda, tergantung pada proses fisiologis yang dipengaruhi dan sifat cekaman. Menurut Haryati (2008) kekurangan air dapat mengganggu aktivitas fisiologis maupun morfologis, sehingga mengakibatkan terhentinya pertumbuhan. Defisiensi air

yang terus menerus akan menyebabkan perubahan yang irreversibel (tidak dapat balik) dan pada gilirannya tanaman akan mati.

Cekaman kekeringan pada tanaman dengan mengurangi potensial air tanpa menyebabkan keracunan dapat dilakukan melalui induksi PEG dengan berat molekul lebih dari 4000 yang ditambahkan pada medium *in vitro* (Lawyer, 1970).

Kultur *in vitro* dengan penambahan PEG dapat menginduksi dan berkorelasi positif dengan yang terjadi di lapangan maupun rumah kaca (Short *et al.*, 1987). Pendekatan dengan seleksi *in vitro* telah mampu menghasilkan varietas tanaman yang tahan terhadap cekaman kekeringan diantaranya pada tanaman nilam (Djazuli, 2010), kacang tanah (Yudiwanti dkk., 2008), dan jagung (Badami dan Amzeri, 2010).

PEG yang larut sempurna dalam air mempunyai kemampuan dapat menurunkan potensial air, dan diharapkan sebagai kondisi selektif untuk mengetahui respon jaringan yang ditanam terhadap cekaman kekeringan serta mengisolasi sel atau jaringan varian yang mempunyai toleransi terhadap cekaman sehingga dapat digunakan untuk mensimulasi besarnya potensial air tanah (Badami dan Amzeri, 2010).

Menurut Savitri (2010), penambahan PEG 6000 dengan konsentrasi 0%, 5%, 10% dan 15% menunjukkan bahwa varietas Grobogan, Argomulyo dan

Kaba menunjukkan respon peka kekeringan, sedangkan varietas Wilis dan Argomulyo menunjukkan respon toleran kekeringan dan varietas Tanggamus menunjukkan respon medium toleran.

Penggunaan PEG dalam konsentrasi yang toleran untuk kedelai varietas Tanggamus, sejauh ini belum pernah dilaporkan secara pasti dan tepat dalam seleksi planlet kedelai, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang konsentrasi PEG yang toleran terhadap cekaman kekeringan planlet kedelai varietas Tanggamus.

B. Tujuan penelitian

Berdasarkan latar belakang di atas maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui kisaran konsentrasi PEG 6000 yang toleran terhadap cekaman kekeringan untuk seleksi planlet kedelai dengan pertumbuhan optimum.
2. Mengetahui dan menganalisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet kedelai yang mengalami cekaman kekeringan meliputi; visualisasi planlet, kandungan klorofil a, klorofil b, klorofil total, dan kandungan karbohidrat.

C. Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai penggunaan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 untuk mendapatkan planlet kedelai yang toleran terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*. Planlet yang toleran terhadap cekaman kekeringan diharapkan dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang pemuliaan tanaman, dan ilmu terapan yang terkait.

D. Kerangka Pemikiran

Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill.) merupakan komoditas pangan sebagai sumber utama protein nabati dan minyak nabati yang sangat penting karena gizinya dan aman dikonsumsi. Pemanfaatan utama kedelai adalah dari biji. Di Indonesia, biji kedelai umumnya dikonsumsi dalam bentuk pangan olahan seperti: tahu, tempe, kecap, tauco, susu kedelai, dan berbagai makanan ringan.

Cekaman kekeringan merupakan salah satu faktor penyebab menurunnya produksi kedelai di Indonesia. Hal itu dapat berpengaruh negatif karena akan menyebabkan terjadinya penurunan hasil kedelai yang akan dipanen. Seleksi *in vitro* planlet dengan menggunakan PEG 6000 merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk melakukan seleksi terhadap tanaman kedelai yang tahan terhadap cekaman kekeringan.

Senyawa *Poly Ethylene Glycol* (PEG) mampu menstimulasikan keadaan cekaman kekeringan dengan cara menurunkan potensial air yang ada di lingkungan sehingga berhubungan dengan penurunan tekanan hidrostatik dalam sel (Oertli, 1985).

Planlet yang dapat tumbuh dalam medium yang mengandung PEG 6000 dengan berbagai konsentrasi diduga akan mampu bertahan dalam kondisi alamnya di lingkungan yaitu kondisi kekeringan. Perkecambahan kedelai varietas Tanggamus yang ditanam pada medium *in vitro* dengan penambahan

PEG 6000 dapat digunakan sebagai indikator kemampuan untuk mensimulasikan cekaman kekeringan dalam medium *in vitro*. Konsentrasi PEG 6000 terdiri dari 4 taraf perlakuan (0% ; 20% ; 40% ; dan 60%). Setelah didapatkan planlet yang mampu tumbuh dalam medium mengandung PEG 6000, karakterisasi yang dilakukan yaitu dengan menganalisis kandungan klorofil a, klorofil b, klorofil total, dan kandungan karbohidrat.

E. HIPOTESIS

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Terdapat kisaran konsentrasi *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 yang toleran terhadap cekaman kekeringan untuk seleksi planlet kedelai secara *in vitro*.
2. Adanya karakter ekspresi yang spesifik pada planlet kedelai yang mengalami cekaman kekeringan meliputi kandungan klorofil a, klorofil b, klorofil total, dan kandungan karbohidrat.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kedelai

Kedelai merupakan tanaman semusim, berupa semak yang rendah, tumbuh tegak dan berdaun lembut. Tinggi tanaman kedelai berkisar antara 10 – 200 cm, dapat bercabang sedikit atau banyak tergantung kultivar dan lingkungan hidup. Morfologi tanaman kedelai didukung oleh komponen utamanya yaitu berupa akar, daun, batang, bunga, polong dan biji sehingga pertumbuhannya dapat optimal (Adisarwanto, 2005).

Menurut Tjitrosoepomo (2005), tanaman kedelai diklasifikasikan sebagai berikut.

Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Ordo	: Rosales
Familia	: Leguminosae
Sub Familia	: Papilionoidae
Genus	: <i>Glycine</i>
Species	: <i>Glycine max</i> (L.) Merrill

Tanaman kedelai umumnya tumbuh tegak, berbentuk semak, dan merupakan tanaman semusim. Morfologi tanaman kedelai didukung oleh komponen utamanya, yaitu akar, daun, batang, polong, dan biji sehingga pertumbuhannya bisa optimal. Sistem perakaran tanaman kedelai terdiri dari akar tunggang, akar sekunder (serabut) yang tumbuh dari akar tunggang. Perkembangan akar tunggang dari akar radikal sudah mulai muncul sejak masa perkecambahan. Akar ini mempunyai akar-akar cabang yang lurus. Akar serabut merupakan akar yang tumbuh ke bawah sepanjang 20 cm. Tanaman ini juga memiliki akar-akar lateral (cabang) yang tumbuh ke samping sepanjang 5-25 cm. Akar serabut, yang terdapat pada akar lateral berfungsi untuk menghisap air dan unsur hara, pada akar ini juga terdapat bintil akar (*nodule*) yang mengandung bakteri *Rhizobium*, kegunaannya sebagai pengikat zat nitrogen dari udara (Anonymous, 2006).

Menurut Fachrudin (2000) buah kedelai berbentuk polong, banyaknya polong tergantung pada jenis atau varietasnya. Dalam satu polong biasanya berisi 1-4 biji. Bentuk biji dan warna biji kedelai juga tidak selalu sama tergantung varietas, ada yang berbentuk bulat, agak gepeng, atau bulat telur. Namun, sebagian besar biji kedelai berbentuk bulat telur dan sebagian besar berwarna kuning dengan ukuran biji kedelai yang dapat digolongkan dalam tiga kelompok, yaitu berbiji kecil (<10g/100biji), berbiji sedang (10-12 g/100 biji), dan berbiji besar (13-18 g/100 biji). Polong kedelai pertama kali muncul sekitar 10-14 hari setelah bunga pertama muncul. Warna polong yang baru

tumbuh berwarna hijau dan selanjutnya akan berubah menjadi kuning atau cokelat pada saat dipanen.

Tanaman kedelai mempunyai daun majemuk bersirip genap. Setiap helai daun terdiri dari tiga helai anak daun. Permukaan daunnya sedikit berbulu, berfungsi sebagai penahan atau penyimpan debu. Di Indonesia, kedelai berdaun sempit lebih banyak ditanam oleh petani dibandingkan tanaman kedelai berdaun lebar, walaupun dari aspek penyinaran sinar matahari, tanaman kedelai berdaun lebar menyerap sinar matahari lebih banyak daripada yang berdaun sempit. Namun, keunggulan tanaman kedelai berdaun sempit adalah sinar matahari akan lebih mudah menerobos di antara kanopi daun sehingga memacu pembentukan bunga (Irwan, 2006).

Kedelai mulai berbunga pada umur 4-5 minggu. Bunga pada tanaman kedelai umumnya tumbuh pada ketiak daun, tetapi bunga dapat terbentuk pada cabang tanaman yang mempunyai daun. Hal ini karena sifat morfologis cabang tanaman kedelai serupa atau sama dengan morfologis batang utama. Pada kondisi lingkungan tumbuh dan populasi tanaman optimal, bunga akan terbentuk mulai dari tangkai daun yang paling bawah. Dalam satu kelompok bunga, pada ketiak daunnya akan berisi 1-7 bunga, tergantung karakter dari varietas kedelai yang ditanam (Adisarwanto dan Wudianto, 2008).

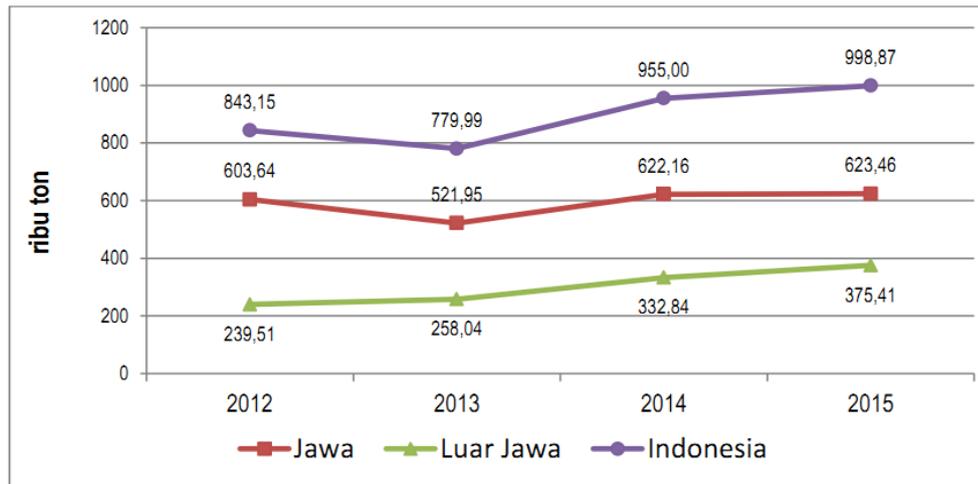
Polong kedelai terbentuk pada hari ke 7-10 setelah munculnya bunga pertama. Jumlah polong yang terbentuk pada setiap ketiak tangkai daun sangat beragam, antara 1-10 buah dalam setiap kelompok. Pembentukan polong dan pembesaran biji akan semakin cepat setelah proses pembentukan bunga berhenti. Ukuran dan bentuk polong menjadi maksimal pada saat awal periode pemasakan biji yang diikuti oleh perubahan warna polong, dari hijau menjadi kuning coklat pada saat masak. Di dalam polong terdapat biji yang berjumlah 2-3 biji. Setiap biji kedelai mempunyai ukuran bervariasi. Biji kedelai tidak mengalami masa dormansi sehingga setelah proses pembijian selesai, biji kedelai dapat langsung ditanam. Namun demikian biji tersebut harus mempunyai kadar air berkisar 12% - 13% (Fachruddin, 2000).

B. Nilai Ekonomi Kedelai

Kedelai merupakan salah satu komoditi primer yang banyak dibutuhkan sebagai input untuk menghasilkan komoditi sekunder, antara lain; susu kedelai, tempe, tahu, tepung kedelai dan lain - lain. Kedelai mempunyai peran yang sangat penting dalam perekonomian di Indonesia. Ketersediaan kedelai di pasar input, mengalami permasalahan karena ketersediaannya tidak mencukupi kebutuhan masyarakat (Aimon, 2014). Selain sebagai salah satu kebutuhan pokok, kedelai juga bermanfaat sebagai bahan obat dan penangkal penyakit (Savitri, 2010). Kedelai memiliki manfaat ekonomis yang cukup tinggi sehingga kebutuhan kedelai di dalam negeri cukup tinggi.

Produksi nasional kedelai masih belum mencukupi kebutuhan, rata-rata kebutuhan kedelai per tahun sebesar 2.1 juta ton, sehingga setiap tahun Indonesia selalu mengimpor kedelai. Produksi kedelai juga mengalami penurunan, tercatat produksi pada tahun 2013 sebesar 807.5 ribu ton menurun sebesar 35.6 ribu ton dibandingkan dengan produksi tahun 2012 (Anonymous, 2014). Rendahnya produksi nasional kedelai terutama disebabkan oleh menurunnya luas panen. Produksi nasional kedelai masih belum mampu mencukupi kebutuhan yang terus meningkat.

Produksi kedelai tahun 2014 diperkirakan sebanyak 921,34 ribu ton biji kering atau meningkat sebanyak 141,34 ribu ton (18,12%) dibandingkan 2013. Perkembangan produksi kedelai tahun 2012 - 2015 disajikan pada Gambar 1.



Keterangan: ¹⁾ Tahun 2015 adalah Angka Ramalan I

Gambar 1. Perkembangan produksi kedelai 2012-2015 (Anonymous, 2014).

Kedelai pada tempat-tempat tertentu seperti di Lampung ditanam sampai tiga kali dalam setahun. Tanam pertama pada bulan September, pada permulaan musim hujan, tanam kedua pada bulan Februari - Maret dan tanam ketiga pada bulan Juni - Juli (Yuliawati, 2014). Gambar kedelai varietas Tanggamus disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Biji varietas Tanggamus
(Foto Pratiwi, diambil di BPSB TPH, Bandar Lampung, 2015)

Deskripsi kedelai varietas Tanggamus disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Deskripsi kedelai varietas Tanggamus

Keterangan	Varietas Tanggamus
Tahun dilepas	22 Oktober 2001
Hasil rata-rata	1,22 ton/ha
Asal	Hibrida
Warna hipokotil	Ungu
Warna epikotil	Hijau
Warna Bunga	Ungu
Warna polong	Coklat
Warna kulit	Kuning
Warna hilum	Cokelat tua
Bentuk biji	Oval
Tipe tumbuh	Determinit
Umur berbunga	35 hari
Umur panen	88 hari
Tinggi tanaman	67 cm
Bobot 100 biji	11,0 g
Ukuran biji	Sedang
Kandungan protein	44,5%
Kandungan lemak	12,9%
Pengusul	Muchlish Adie, dkk

Sumber: Suhartini, 2005.

C. Cekaman Kekeringan

Cekaman kekeringan merupakan salah satu faktor penghambat utama dalam meningkatkan produksi tanaman kedelai terutama pada daerah-daerah yang mempunyai hambatan ketersediaan air baik secara alami maupun teknis. Usaha untuk mengatasi masalah kekurangan air selama ini adalah dengan perbaikan sistem irigasi teknis, namun usaha ini dirasakan terlalu banyak membutuhkan biaya dan tidak seimbang dengan peningkatan hasil yang diperoleh (Sloane *et al.*, 1990). Oleh karena itu perlu dicari alternatif lain untuk mengatasi masalah tersebut. Salah satu diantaranya adalah dengan pengembangan kedelai toleran terhadap cekaman kekeringan.

Terjadinya kekeringan yang berkepanjangan pada tanaman akan menyebabkan pertumbuhan tanaman dan akhirnya tanaman akan mengalami stagnasi (berhenti tumbuh). Turunnya pertumbuhan tanaman ini akibat dari respon tanaman terhadap cekaman yang ada pada lingkungannya yaitu cekaman kekeringan. Selain itu tanaman yang mengalami cekaman kekeringan akan berkurang taraf biomassa tanamannya. Secara morfologis terjadinya cekaman kekeringan pada tanaman dapat dilihat dengan memanjangnya akar tanaman sampai dalam dan menemukan air untuk diserap, mengecilnya permukaan daun sehingga respirasi berkurang, dan tanaman juga akan menggugurkan daunnya. Terjadinya cekaman kekeringan pada tanaman dapat disebabkan oleh 2 faktor, yaitu: suplai air di perakaran sudah mulai berkurang sehingga akar harus memanjang untuk mendapatkan

suplai air tersebut, dan terjadinya laju evaporasi yang lebih tinggi dari pada proses absorpsi air tanah (Lapanjang dkk., 2008).

Salah satu faktor lingkungan abiotik yang paling berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman adalah ketersediaan air yang cukup. Mekanisme ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan adalah menghindari dari kondisi cekaman. Tanaman akan mengalami mekanisme morfologis dan fisiologis untuk menghindari dari cekaman kekeringan. Tanaman akan menghindari dari cekaman kekeringan dengan memanjangkan akar untuk mencari sumber air dalam permukaan tanah (Djazuli, 2010).

Tanaman dalam merespon suatu cekaman kekeringan dengan cara perubahan morfologis, fisiologis dan biokimia dengan waktu yang berbeda, seperti menutupnya stomata, gejala penuaan daun, pengurangan biomassa dan lain – lain. Respon yang paling sering dilakukan adalah pada perkembangan selnya dimana sel – sel akan terhambat pembelahannya dan perluasannya. Cekaman ditimbulkan karena kekeringan yang akan mengakibatkan tanaman merespon secara meluas yang dimulai dari ekspresi gen, metabolisme dan dalam pertumbuhannya (Darmawan dan Baharsjah, 1998).

D. Kultur *In Vitro*

Istilah kultur jaringan digunakan untuk menjelaskan semua prosedur kultur tanaman yang dilakukan secara aseptik menyangkut pertumbuhan protoplas tanaman, sel, jaringan, organ, embrio, dan pertumbuhan planlet. Karena

pertumbuhan berlangsung dalam kondisi steril dan dengan lingkungan kultur yang dikondisikan, maka metode ini disebut kultur *in vitro* (Struik, 1991).

Adanya metode kultur jaringan didasarkan pada alasan bahwa suatu tanaman dapat dipisahkan ke dalam bagian-bagian komponennya (organ, jaringan, atau sel) yang dapat dimanipulasi secara *in vitro* kemudian ditumbuhkan kembali menjadi tanaman yang lengkap (Caponetti *et al.*, 2005).

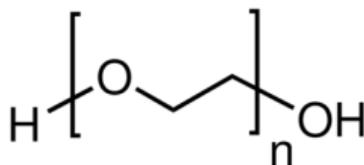
Seleksi *in vitro* dengan metode kultur jaringan merupakan metode yang sangat cocok untuk digunakan menyeleksi varietas-varietas kedelai yang toleran terhadap kekeringan, karena menurut Sirait (2001) metode kultur jaringan mempunyai keunggulan antara lain waktu seleksi lebih singkat, tidak membutuhkan ruang yang luas, mudah dikontrol dan tidak dibatasi oleh musim jika dibandingkan perlakuan kekeringan di lapangan.

E. *Poly Ethylen Glycol* (PEG)

Poly Ethylen Glycol 6000 merupakan senyawa yang stabil, non ionik, polymer panjang yang larut dalam air dan dapat digunakan dalam sebaran bobot molekul yang luas. PEG dengan bobot molekul lebih dari 4000 dapat menginduksi stres air pada tanaman dengan mengurangi potensial air pada larutan nutrisi tanpa menyebabkan keracunan. Senyawa PEG yang bersifat larut dalam air dan dapat menyebabkan penurunan potensial air yang homogen. Besarnya penurunan air sangat tergantung pada konsentrasi dan berat molekul PEG. Keadaan seperti ini dapat dimanfaatkan untuk melakukan

simulasi penurunan potensial air. Potensial air dalam medium yang mengandung PEG dapat digunakan untuk meniru besarnya potensial air tanah (Sutjahjo dkk., 2007).

Poly Ethylene Glycol (PEG) 6000 memiliki struktur bentuk padat, berwarna putih, suhu lebur 55 - 63 °C, berat molekul 6000-7000. Komposit polimer karbon dari PEG 6000 yaitu 0,082 mho. PEG 6000 menunjukkan konduktivitas paling besar sebelum penambahan uap etanol 90% hasil komposit polimer karbon (Gunawan dan Azhari, 2010). Struktur bangun PEG 6000 di sajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur *Poly Ethylene Glycol* (PEG) (Anonymous, 2015).

Menurut Lawyer (1970), Penggunaan PEG 6000 lebih disarankan karena dengan berat molekul lebih dari 4000 tidak dapat diserap oleh sel tanaman. Mexal (1975), PEG dengan berat molekul 6000 dipilih karena mampu bekerja lebih baik pada tanaman daripada PEG dengan berat molekul yang lebih rendah.

Dengan sifat-sifat seperti yang disebut di atas PEG dapat digunakan untuk menginduksi cekaman air dalam kultur *in vitro*. Faktor lingkungan yang sering dialami oleh tanaman adalah cekaman dimana faktor ini akan

mengurangi laju pada proses fisiologis. Tanaman memiliki cara tersendiri untuk menghadapi efek yang akan merusak pada dirinya yang ditimbulkan oleh cekaman. Setiap tanaman akan memberikan respon yang berbeda-beda untuk menghadapi cekaman, semua tergantung pada jenis tanamannya. Apabila tanaman mampu dalam menghadapi cekaman yang terjadi maka tanaman itu bisa dikatakan sebagai tanaman yang memiliki tingkat resisten yang sangat tinggi terhadap cekaman (Mulyani, 2006).

Poly Ethylene Glycol dapat digunakan untuk menstimulasi keadaan cekaman kekeringan di alam, karena PEG mampu menstimulasikan keadaan cekaman dengan menggunakan potensial air yang ada di lingkungan sehingga berhubungan dengan penurunan tekanan hidrostatik dalam sel (Oertli, 1985).

F. Biosintesis Klorofil

Klorofil merupakan pigmen berwarna hijau yang terdapat dalam kloroplas. Pada tumbuhan tingkat tinggi, kloroplas terdapat pada jaringan parenkim palisade dan parenkim spons daun. Dalam kloroplas, pigmen utama klorofil serta karotenoid dan xantofil terdapat pada membran tilakoid (Salisbury dan Ross, 1991).

Sintesis klorofil pada daun digunakan untuk menangkap cahaya dengan jumlah berbeda tergantung pada faktor lingkungan dan genetik setiap spesies. Faktor - faktor yang mempengaruhi sintesis klorofil yaitu cahaya, gula, air, karbohidrat, faktor genetik, temperatur, dan unsur unsur seperti: N, Fe, Mg,

Mn, Cu, Zn, S dan Oksigen. Unsur Nitrogen ini merupakan faktor yang penting untuk pembentukan klorofil yang merupakan unsur hara makro. Kekurangan unsur N pada tanaman dapat menyebabkan gejala klorosis pada daun (Hendriyani dan Nantya, 2009).

Sifat fisik klorofil adalah dapat menerima atau memantulkan cahaya dengan gelombang yang berlainan. Klorofil banyak menyerap sinar dengan panjang gelombang antara 400-700 nm, terutama sinar merah dan biru. Sifat kimia pada klorofil, antara lain (1) tidak larut dalam air, melainkan larut dalam pelarut organik yang lebih polar, seperti etanol dan kloroform; (2) inti Mg akan tergeser oleh 2 atom H bila dalam suasana asam, sehingga membentuk suatu persenyawaan yang disebut feofitin dan berwarna coklat (Dwidjoseputro, 1994).

Tiga fungsi utama klorofil dalam proses fotosintesis adalah memanfaatkan energi matahari, memicu fiksasi CO₂ untuk menghasilkan karbohidrat dan menyediakan energi bagi ekosistem secara keseluruhan. Karbohidrat yang dihasilkan dalam fotosintesis diubah menjadi protein, lemak, asam nukleat dan molekul organik lainnya. Klorofil menyerap cahaya yang berupa radiasi elektromagnetik. Cahaya matahari mengandung semua warna spektrum kasat mata dari merah sampai violet, tetapi tidak semua panjang gelombang dapat diserap dengan baik oleh klorofil. Klorofil dapat menampung cahaya yang diserap dengan pigmen lainnya melalui

fotosintesis, sehingga klorofil disebut juga sebagai pigmen pusat reaksi fotosintesis (Bahri, 2010).

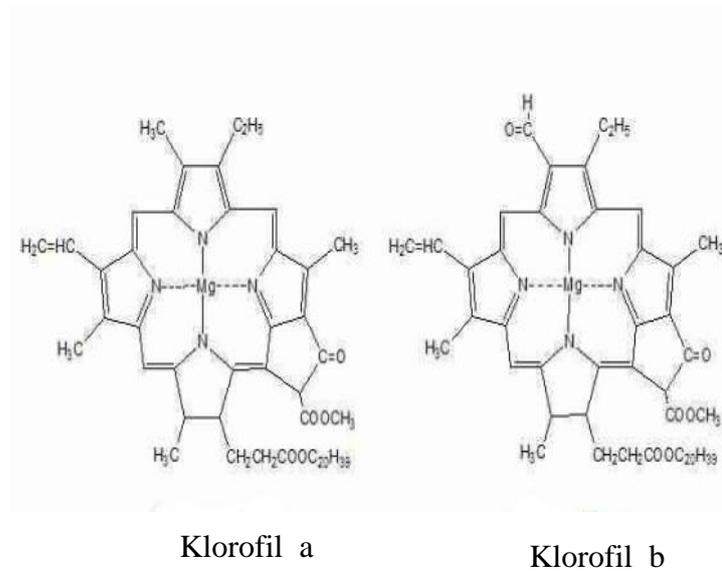
Pengukuran karakter fisiologis seperti kandungan klorofil, merupakan salah satu pendekatan untuk mempelajari pengaruh kekurangan air terhadap pertumbuhan dan hasil produksi karena parameter ini berkaitan dengan laju fotosintesis (Li *et al.*, 2006). Kekurangan air dari tingkat paling ringan sampai paling berat mempengaruhi proses biokimia yang berlangsung dalam sel. Kekurangan air akan menurunkan laju fotosintesis (Banyo dkk., 2013).

Sintesis klorofil sangat dipengaruhi oleh air. Klorofil akan meningkat saat hujan dan akan menurun saat keadaan tanah gersang. Kadar air pada daun berperan dalam mempertahankan jumlah maksimum kadar klorofil (Homayoun *et al.*, 2011)

Respon tanaman terhadap kekurangan air menyebabkan terjadinya penurunan kandungan klorofil pada daun. Penurunan konsentrasi klorofil pada daun karena adanya respon fisiologis tanaman yang mengalami kekurangan air. Respon fisiologis tersebut terdiri dari pembentukan klorofil yang terhambat, penurunan enzim rubisco dan terhambatnya penyerapan unsur hara seperti nitrogen serta magnesium yang sangat dibutuhkan tanaman dalam sintesis klorofil (Nio dan Banyo, 2011).

Menurut Nio Song dan Lenak (2014) PEG mampu menurunkan kandungan klorofil total dan klorofil a pada tanaman, dengan demikian kandungan klorofil total dan klorofil a dapat digunakan sebagai indikator cekaman kekeringan pada tanaman.

Proses reaksi fotosintesis dalam tumbuhan tingkat memiliki dua macam klorofil yaitu klorofil a ($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$) yang berwarna hijau tua dan klorofil b ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$) yang berwarna hijau muda. Klorofil a dan klorofil b paling kuat menyerap cahaya di bagian merah (600-700 nm), dan paling sedikit menyerap cahaya hijau (500-600 nm), sedangkan cahaya berwarna biru diserap oleh karotenoid. Spektrum cahaya matahari dapat dimanfaatkan dengan baik karena karotenoid membantu menyerap cahaya yang masuk. Energi yang diserap oleh klorofil b dan karotenoid diteruskan kepada klorofil a untuk digunakan dalam proses fotosintesis fase I (reaksi terang) yang terdiri dari fotosistem I dan II, demikian pula dengan klorofil b. Klorofil a yang paling banyak terdapat pada Fotosistem II sedangkan klorofil b paling banyak terdapat pada Fotosistem I (Anonymous, 2011). Struktur klorofil a dan b disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Klorofil a dan b (Anonymous, 2011).

G. Kandungan Karbohidrat

Karbohidrat merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam jaringan tanaman terutama pada bagian daun dan bagian biji. Karbohidrat yang terdapat pada jaringan tanaman tidak lepas dari adanya ketergantungan tanaman yang sangat tinggi terhadap keberadaan senyawa karbohidrat bagi kehidupannya. Karbohidrat memiliki peran yang penting bagi kehidupan tanaman. Tanpa karbohidrat tanaman tidak akan mampu tumbuh, berkembang, dan melakukan kegiatan fisiologis lainnya secara normal akibat dari kekurangan energi yang bersumber dari karbohidrat, yang penting sebagai bahan bakar dalam melaksanakan proses-proses tersebut. Karbohidrat dapat berperan penting sebagai sumber energi utama bagi tanaman untuk melangsungkan kehidupannya (Salisbury dan Ross, 1991).

Selama periode cekaman kekeringan, laju fotosintesis mengalami penurunan dan ketika produksi fotosintesis tidak lagi mencukupi, maka pemecahan karbohidrat terlarut dapat digunakan untuk mempertahankan metabolisme. Secara teori, semua spesies tanaman memiliki mekanisme menghindari dari kekeringan dan kemampuan untuk menyesuaikan diri dengan osmoregulasi, karena adanya peningkatan fleksibilitas sebagai respons terhadap perubahan kondisi lingkungan (Zhang *et al.*, 2010).

Mafakheri *et al.*, (2010), menyatakan bahwa cekaman kekeringan dapat meningkatkan konsentrasi karbohidrat terlarut pada semua varietas tanaman percobaan. Tanaman memiliki kadar karbohidrat terlarut yang tinggi ketika tumbuh dalam keadaan kekeringan selama kedua fase vegetatif dan selama bunga mekar.

Menurut McKersie and Leshem (1994), dalam kondisi cekaman kekeringan menekan, maka penimbunan larutan aktif zat terlarut yang kompatibel seperti karbohidrat semakin besar dan mekanisme tanaman untuk toleran terhadap cekaman lebih efektif lagi.

Khaerana dkk., (2008) juga menyatakan bahwa tanaman yang mengalami cekaman kekeringan akan berusaha melakukan perubahan-perubahan fisiologis sebagai bentuk adaptasinya agar bisa bertahan hidup. Salah satu bentuk adaptasi tersebut adalah kemampuan tanaman untuk mempertahankan tekanan turgor atau penyesuaian osmotik. Menurut Salisbury dan Ross

(1995), perubahan tekanan turgor akan mempengaruhi proses fisiologi dan biokimia yang terjadi dalam tumbuhan, antara lain dengan mengakumulasi senyawa-senyawa terlarut yang meliputi gula, asam amino, prolin, dan glisin betain.

Kelarutan karbohidrat dapat membantu tanaman untuk bertahan hidup menghadapi cekaman dan menjaga tekanan osmotik sel yang disebabkan oleh kekeringan. Perhitungan kandungan karbohidrat diberbagai sampel merupakan analisis dasar diberbagai tahapan biosains. Diantara semua metode kolorimetri untuk menentukan jenis karbohidrat, metode fenol-sulfur merupakan metode termudah dan akurat untuk pengukuran gula murni pada oligosakarida, proteoglikan, glikoprotein dan glikolipid (Masuko *et al.*, 2005).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan dari bulan Desember 2015 - Februari 2016 di ruang *In Vitro*, Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

1. Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, *Autoklaf* alat pemanas tertutup yang digunakan untuk mensterilisasi suatu benda menggunakan uap bersuhu dan bertekanan tinggi 121°C , *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF) meja kerja steril untuk melakukan kegiatan inokulasi/ penanaman, pinset, *scalpel*, mata pisau *scalpel* alat pemotong eksplan, kertas filter, *Erlenmeyer* berukuran 50ml, cawan petri, corong, botol kultur berukuran 250 ml digunakan untuk tempat penanaman eksplan, gelas ukur bervolume 100ml dan 500ml, kertas label, mikroskop, mikropipet, pipet tip, spektrofotometri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan analitik, tisu, *waterrbatt* untuk penangas air, dan kamera *vivo XS3*.

2. Bahan-bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill.) varietas Tanggamus, alkohol 70% untuk sterilisasi alat, akuades, *Poly Ethylen Glikol* (PEG) 6000, bahan dasar *Murashige dan Skoog* (MS) media yang digunakan untuk penanaman eksplan, *Benzine Amino Purine* (BAP), sukrosa, *Plant Preservative Mixture* (PPM), Kalium Hidroksida (KOH), Asam Chlorida (HCl), agar bacto, larutan stok organik yaitu sukrosa, vitamin, asam amino, detergen dan bayclin (digunakan untuk sterilisasi eksplan).

C. Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian ini disusun dengan pola dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu konsentrasi PEG 6000 yang terdiri atas 4 taraf perlakuan (0%; 20%; 40%; 60%;). Masing-masing konsentrasi dilakukan 5 kali pengulangan dan setiap ulangan terdiri dari 5 eksplan biji kedelai dalam setiap botol kultur. Tata letak percobaan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Tata letak satuan percobaan

V_1S_2	V_2S_3	V_1S_4	V_3S_5	V_4S_2
V_2S_1	V_1S_1	V_2S_2	V_2S_4	V_4S_1
V_4S_5	V_3S_4	V_3S_3	V_1S_5	V_3S_2
V_3S_1	V_4S_4	V_1S_3	V_4S_3	V_2S_5

Keterangan:

V_1 : Konsentrasi 0 % (kontrol)

V_2 : Konsentrasi 20%

V_3 : Konsentrasi 40 %

V_4 : Konsentrasi 60 %

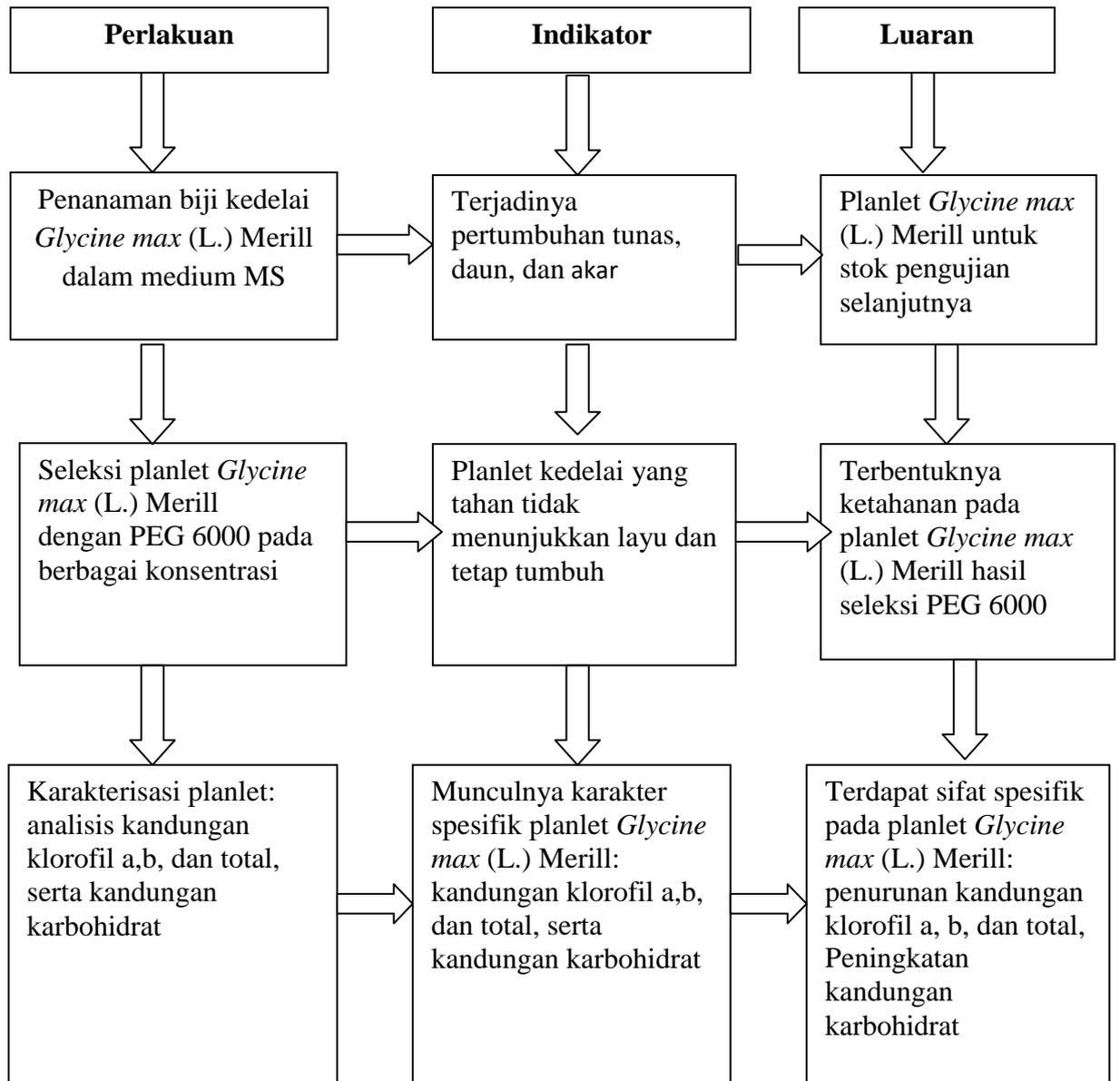
$S_1 - S_5$: Ulangan 1 – ulangan 5

D. Bagan Alir Penelitian

Alur penelitian ini dapat diuraikan sebagai berikut.

Penelitian terdiri atas beberapa tahap, yaitu sterilisasi alat dengan menggunakan autoklaf, selanjutnya pembuatan 1 liter medium, medium yang digunakan adalah medium padat MS dan pengenceran PEG berbagai konsentrasi di dalam LAF agar tetap steril. Sterilisasi benih biji kedelai yang akan ditanam dengan menggunakan larutan deterjen dan larutan bayclean, kemudian setelah medium diinkubasi selama 3 hari dan tidak terjadi kontaminan dalam medium, biji kedelai (*Glycine max* L. Merrill) siap ditanam kedalam medium MS yang sudah ditambahkan PEG 6000 sesuai konsentrasi. Penentuan kisaran konsentrasi PEG 6000 toleran terhadap cekaman kekeringan untuk seleksi planlet kedelai secara *in vitro*, dan analisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet kedelai yang mengalami cekaman kekeringan meliputi presentase jumlah planlet hidup,

visualisasi planlet, analisis kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total, serta analisis kandungan karbohidrat. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 4 minggu. Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti tercantum pada Gambar 5.



Gambar 5. Bagan alir penelitian

E. Pelaksanaan

Pelaksanaan penelitian meliputi berapa langkah sebagai berikut :

1. Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas dan *dissecting set* (*scalpel*, pinset, gunting) di cuci dengan detergen kemudian alat-alat tersebut dicuci dengan air mengalir dan di autoklaf. Alat dari bahan gelas di tutup plastik, sedangkan alat-alat dari bahan logam dan cawan petri dibungkus dengan kertas payung. Semua alat tersebut di setrilisasi dalam autoklaf pada temperature 121°C, selama 30 menit.

2. Persiapan medium tanam

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Murashig* dan *Skoog* (MS) padat. Pembuatan medium tanam MS sebanyak 1 liter adalah dengan cara memipet sejumlah larutan stok, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 1 liter. Akuades ditambahkan sampai tanda 1 liter dan pH diatur sampai 5,5 dilakukan penambahan KOH 1N atau HCl 1 N. Larutan tersebut kemudian dipindahkan ke dalam wadah yang lebih besar kemudian ditambahkan agar-agar 7g/l, sukrosa 30 g/l, dan PPM 0,5 ml/l. Larutan medium dipanaskan untuk melarutkan agar-agar (sambil diaduk) sampai mendidih, selanjutnya medium dipanaskan sampai mendidih dan diaduk. Penambahan ZPT dilakukan setelah larutan medium diangkat. Kemudian dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 20 ml/botol. Sterilisasi medium dengan menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5

psi, 121°C selama 15menit. Komposisi medium *Murashige* dan *skoog* (MS) disajikan pada Tabel 9 Lampiran 1.

3. Persiapan Medium Seleksi

Medium *Murashige* dan *Skoog* (MS) padat ditambah PEG 6000 dengan konsentrasi 0% (kontrol); 20%; 40%; dan 60%). Sebelum digunakan, PEG 6000 yang telah dilarutkan dengan akuades pada konsentrasi tertentu disaring menggunakan *syringe filter* yang mempunyai diameter 0,45 µm sebanyak 2 kali dilanjutkan filter berdiameter 0,22 µm satu kali.

Penyaringan dilakukan dalam ruang steril didalam LAF Cabinet.

Selanjutnya PEG 6000 ditambahkan ke dalam medium MS. Sebelum digunakan, medium diinkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar (25 °C) untuk memastikan bahwa PEG 6000 telah tersaring dengan baik. Apabila dalam waktu 7 hari tidak terjadi kontaminasi pada medium, maka medium dapat digunakan. Pembuatan konsentrasi PEG disajikan pada Lampiran 2.

4. Persiapan dan Sterilisasi

Benih direndam dalam deterjen selama 5 menit lalu dibilas dengan air mengalir sebanyak 3 kali setelah itu direndam dalam larutan bayclin 20% selama 2 - 3 menit. Biji kedelai dibilas dengan akuades, pembilasan dilakukan dua kali. Setelah itu dipindahkan ke dalam cawan petri selanjutnya benih ditanam pada medium seleksi dengan penambahan ZPT. Penanaman biji kedelai dilakukan di dalam LAF Cabinet. Setiap botol kultur ditanami 5 biji, sehingga total biji yang ditanam sebanyak 100

dalam 20 botol kultur. Biji-biji kedelai tersebut di tumbuhkan hingga menjadi planlet pada medium MS dengan penambahan senyawa PEG. Inkubasi kultur dilakukan pada ruangan dengan penyinaran ± 1000 lux, 24 jam/hari dan suhu ± 20 °C.

5. Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada akhir minggu ke-4 dan dievaluasi untuk mengetahui konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk seleksi biji kedelai secara *in vitro*. Setelah 4 minggu inkubasi, planlet yang masih hidup di dalam botol kemudian dikarakterisasi dengan parameter sebagai berikut.

a. Persentase Jumlah Planlet yang Hidup

Penghitungan persentase jumlah planlet hidup kedelai dengan menggunakan rumus:

$$\frac{\text{Jumlah planlet yang hidup}}{\text{Jumlah seluruh planlet}} \times 100\%$$

(Nurcahyani dkk., 2014)

b. Visualisasi Planlet

Meliputi warna planlet setelah diseleksi PEG 6000 dengan klasifikasi sebagai berikut: hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna coklat, coklat.

c. Analisis Kandungan Klorofil

Bahan untuk analisis klorofil menggunakan daun planlet kedelai yang sudah di seleksi dengan PEG 6000, menggunakan metode Harbourne (1987) dengan spektrofotometer. Daun planlet kedelai yang seragam sebanyak 0,1 g dihilangkan ibu tulang daunnya, kemudian digerus

dengan mortar (*pestle*) dan ditambahkan 10 mL aseton 80%. Setelah itu larutan disaring dengan kertas Whatmann No. 1, dan dimasukkan ke dalam flakon serta ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar (aseton 80%) di ambil sebanyak 1mL, kemudian dimasukkan dalam kuvet. Setelah itu dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang (λ) 646 nm dan 663 nm, dengan ulangan tiap sampel sebanyak 3 kali. Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Klorofil total} = 17,3 \lambda_{646} + 7,18 \lambda_{663} \text{ mg/L}$$

$$\text{Klorofil a} = 12,21 \lambda_{663} - 2,81 \lambda_{646} \text{ mg/L}$$

$$\text{Klorofil b} = 20,13 \lambda_{646} - 5,03 \lambda_{663} \text{ mg/L (Harbourne, 1987)}$$

d. Kandungan Karbohidrat

Kandungan karbohidrat terlarut total ditentukan berdasarkan metode fenol sulfur, 1 gram planlet kedelai digerus sampai halus dalam mortar, lalu ditambahkan 100 ml aquades. Ekstrak disaring kedalam erlenmeyer dengan menggunakan kertas saring Whatman no.1. Ekstrak kedelai diambil 1ml dimasukkan ke dalam aquades 2 ml. Selanjutnya 2 ml larutan H_2SO_4 pekat dan 1ml larutan fenol ditambahkan pada ekstrak tersebut. Tabung reaksi didiamkan beberapa saat, warna cokelat kemerahan menunjukkan adanya karbohidrat terlarut. Nilai absorbansi diukur dengan spektrofotometri uv pada panjang gelombang 490 nm. Nilai absorbansi setiap ekstrak kedelai dicatat. Kandungan karbohidrat

ditentukan berdasarkan kurva standar glukosa dan dinyatakan dalam satuan mg/g jaringan (Witham *et al.*, 1993).

f. Analisis Data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet kedelai selama seleksi dengan PEG 6000 berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan di dukung foto. Data kuantitatif dari setiap parameter dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf nyata 5%.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa:

1. Kisaran konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk seleksi planlet kedelai terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro* adalah 20% - 60%.
2. Karakter ekspresi yang spesifik pada planlet kedelai yang mengalami cekaman kekeringan dengan penambahan PEG adalah menurunnya kandungan klorofil a, b dan total serta meningkatnya kandungan karbohidrat dibandingkan dengan kontrol.

B. Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan untuk mendapatkan planlet yang toleran terhadap kekeringan yaitu dengan cara menaikkan konsentrasi PEG pada tanaman yang akan diuji dan analisis karakterisasi lainnya pada planlet yang mengalami cekaman kekeringan antara lain analisis prolin, kandungan fenol dan antioksidan, karakter agronomis, serta karakter molekular; analisis DNA dan profil protein.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto T. 2005. *Kedelai*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Adisarwanto T dan Wudianto R. 2008. *Meningkatkan Hasil Panen Kedelai*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Aimon Hasdi. 2014. Prospek Konsumsi dan Impor Kedelai Di Indonesia Tahun 2015 – 2020. *Jurnal Kajian Ekonomi*. Vol III, No. 5.
- Anonymous. 2006. Departemen Pertanian. *Outlook Komoditas Pertanian Tanaman Pangan*. Pusat Data dan Informasi Pertanian. Jakarta. <http://pse.litbang.pertanian.go.id>. Diakses pada tanggal 06 Maret 2016 pukul 19.00 WIB.
- Anonymous. 2011. *Klorofil*. <http://id.m.wikipedia.org>. Diakses pada tanggal 01 Mei 2016 pukul 19.00 WIB.
- Anonymous. 2014. BPS (Badan Pusat Statistik). 2014. *Luas Panen, Produktivitas, dan Produksi Kedelai*. <http://www.bps.go.id>. Diakses pada tanggal 05 Maret 2016 pukul 21.00 WIB.
- Anonymous. 2014. Badan Pusat Statistik (BPS). 2009. *Produksi jagung dan kedelai 2014 meningkat*. <http://industri.kontan.co.id/news/bps-produksi-jagung-dan-kedelai-2014-meningkat>. Diakses pada tanggal 25 November 2015 pukul 20.30 WIB.
- Anonymous. 2015. *Poly Ethylene Glykol*. <http://www.wikipedia.org>. Diakses 05 Maret 2016 pukul 16.30 WIB.
- Anonymous. 2015. Berita Resmi Statistik No. 62/07/Th. XVIII, 1 Juli 2015. *Produksi Padi, Jagung, dan Kedelai*. http://bps.go.id/website/brs_ind/brsInd-20150701111533.pdf. Diakses pada tanggal 03 November 2015 pukul 20.00 WIB.
- Badami K dan A. Amzeri. 2010. Seleksi *In Vitro* untuk Toleransi Terhadap Kekeringan pada Jagung (*Zea Mays* L.) dengan *Polyethylene Glycol* (PEG). *Agrovigor* Vol 3, No. 1.
- Bahri, S. 2010. *Klorofil*. Diktat Kuliah Kapita Selektta Kimia Organik. Universitas Lampung.
- Banyo Y.E., Nio S.Ai., P. Siahaan., dan A.M. Tangapo. 2013. Konsentrasi Klorofil Daun Padi pada Saat Kekurangan Air yang Diinduksi dengan Polietilen Glikol. *Jurnal Ilmiah Sains* Vol 13, No. 1.
- Cahyadi W. 2007. *Kedelai: Khasiat dan Teknologi*. Bumi Aksara. Jakarta.

- Caponetti JD., Gray DJ., and Trigiano RN. 2005. History of Plant Tissue and cell Culture. Plant Development and Biotechnology. CRC Press Boca Raton London. pp : 9-15.
- Darmawan J dan S. J. Baharsjah. 1998. *Dasar-Dasar Fisiologi Tanaman*. SITC. Jakarta.
- Dwidjoseputro, D. 1994. *Pigmen Klorofil*. Erlangga. Jakarta.
- Djazuli M. 2010. Pengaruh Cekaman Kekeringan terhadap Pertumbuhan dan Beberapa Karakter Morfo- Fisiologis Tanaman Nilam. *Bul.Littro* Vol 21, No. 1. pp : 8-17.
- Fachruddin L. 2000. *Budidaya Kacang-kacang*. Kanisus, Jakarta.
- Giono B., M. Farid., A. Nur., A Solle., dan I Idrus. 2014. Ketahanan Genotipe Kedelai Terhadap Kekeringan dan Kemasaman, Hasil Induksi Mutasi dengan Sinar Gamma. *Jurnal Agroteknos*. Vol 4, No. 1. pp: 44-52.
- Gunawan L.W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Gunawan, B dan Azhari, C. D. 2010. Karakterisasi Spektrofotometri I R dan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) Sensor Gas dari Bahan Polimer *Poly Ethylene Glycol* (PEG). *Jurnal ISSN* : 1979-6870.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia dan Penurunan cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan Oleh : K. Padmawinata dan I. Joediro. Cetakan ke 2. Penerbit ITB. Bandung, pp : 234-24.
- Haryati. 2008. Pengaruh cekaman air terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman. <http://library.usu.ac.id/download/fp/hslpertanian-haryati2.pdf>. Program Studi Hasil Pertanian. Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Hendriyani IS dan Nantya S. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. *Jurnal Sains dan matematika* Vol 17, No.3.
- Homayoun H., Daliri MS and Mehrabi P. 2011. Effect of Drough Stress on Leaf Chlorophyll in Corn Cultivars (*Zea mays*). *Middle-East Journal of Scientific Research* Vol 9, No. 3. pp :418-420.
- Irwan W.A. 2006. *Budidaya Tanaman Kedelai (Glycine max (L.) Merrill)*. Universitas Padjajaran. Jatinangor.
- Jumin, H.B. 1992. *Ekologi Tanaman Suatu Pendekatan Fisiologi*. Rajawali Press: Jakarta.

- Kaufmann, M.R., and A.N. Eckard. 1971. Evaluation of Water Stress Control with Polyethylene Glycol. *Science* Vol 133, pp :1486- 1487.
- Kerepesi, Galiba G. 2000. Osmotic and Salt Stress-Induced Alteration in Soluble Carbohydrate Content in Wheat Seedlings. *Crop Science* Vol. 40, March–April 2000.
- Keyvan, S. 2010. The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. *Journal of Animal & Plant Sciences* Vol 8, No. 3. pp : 1051- 1060.
- Khaerana, M., Ghulamahdi., dan E. D. Purwakusumah. 2008. Pengaruh Cekaman Kekeringan dan Umur Panen terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Xanthorrhizal Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb.) *Bul. Agron.* Vol 36, pp: 241-247.
- Kurniasari, A.M., Adisyahputra dan R.Rosman. 2010. Pengaruh Kekeringan pada Tanah Bergaram NaCl terhadap Pertumbuhan Tanaman Nilam. *Bul. Littro* Vol 21, No. 1. pp : Hal 18- 27.
- Lapanjang I. B.S., Purwoko H., S.W., dan Budi R.M. Melati. 2008. Evaluasi Beberapa Ekotipe Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) untuk Toleransi Cekaman Kekeringan. *J. Agron. Indonesia* Vol 36, pp :263-26.
- Lawyer, D W, 1970. Absorption of PEG by plan enther effect on plan growth. *New physiol.*Vol 69, pp :501-503.
- Li, R.P.G., M. Baum, S. Grando and S.Ceccarelli. 2006. Evaluation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Barley. *Agricultural Sciences in China.* Vol 5, No. 10. pp : 751-757.
- Mafakheri A., Siosemardeh A., Bahramnejad B., Struik PC., and Sohrabi Y. 2010. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Aust J Crop Sci.* Vol 4, pp :580-585.
- Masuko T., Akio M., Norimasa I., Tokifumi Majima., Shin-Ichiro N., and Yuan C. Lee. 2005. Carbohydrate analysis by a phenol–sulfuric acid method in microplate format. *Analytical Biochemistry* Vol 339, pp : 69–72.
- McKersie BD., and Leshem YY. 1994. Stress and stress coping in cultivated plants. London: Kluwer Academic Publishers.
- Mexal., J. J.T Fisher., J. Osteryoung and C.P. particks Reid. 1975. Oxygen Aviability in Polyetylena Glycol Solution and its Implications in Plant Water Relation. *Plant Physiol* Vol 55, pp : 915-916.

- Michel B.E and M.R. Kaufmann. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol* Vol 57, pp : 914-916.
- Mulyani. S. 2006. *Anatomi Tumbuhan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Nio Song A dan Y. Banyo. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains* Vol 11, No. 2.
- Nio Song A dan A. A. Lenak. 2014. Penggulungan Daun Pada Tanaman Monokotil Saat Kekurangan Air. *Jurnal Bioslogos*, Agustus 2014, Vol 4 No.2.
- Nurchayani E., Hadisutrisno B., Sumardi I., dan Suharyanto. 2014. Identifikasi Galur Planlet Vanili (*Vanilla planifolia Andrews*) Resisten terhadap Infeksi *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Vanillae* hasil seleksi *in vitro* dengan Asam Fusarat. *Prosiding Seminar Nasional: "Pengendalian Penyakit Pada Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan"*. Perhimpunan Fitopatologi Indonesia Komda Joglosemar- Fakultas Pertanian UGM. ISBN 978- 602-71784-0-3./2014 pp : 272-279.
- Oertli J J.1985. The response of Plant Cells to Different Forms of Moisture stress. *Jurnal of Plant Physiology* Vol 121, pp : 295–300.
- Salisbury F.B dan W.C. Ross.1991. *Fisiologi tumbuhan*. Jilid 2. ITB, Bandung.
- Salisbury F.B dan W.C. Ross.1995. *Fisiologi tumbuhan*. Jilid 2. ITB, Bandung.
- Savitri ES. 2010. Pengujian *in vitro* Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine max* L. Merr) Toleran Kekeringan Menggunakan *Polyethylene Glykol* (PEG) 6000 pada Media Padat dan Cair. *El-Hayah* Vol 1, No.2.
- Sirait B. 2001. Evaluasi Karakter Morfofisiologis dan Produksi Galur Kedelai (*Glycine max* (L) Merr) Toleran Aluminium yang Diseleksi Secara *In Vitro*. [Tesis]. Program Pascasarjana IPB. Bogor.
- Short, K.C., I. Warburton., dan A.V. Roberts. 1987. *In vitro* hardening of cultures cauliflower and chrysanthemum plantlets to humidity. *Acta Hor* (2120) pp : 324-329.
- Sloane RJ., RP Patterson., and T F Carter Jr. 1990. Field drought tolerance of soybean plant introduction. *Crop Sci* Vol 30 pp : 118-123.
- Struik PC. 1991. Plant Tissue Culture. Biotechnological Innovations in Crop Improvement. Biotechnology by Open Learning. Open Universiteit, Heerlen Nederland and Thames Polytechnic, London United Kingdom. *Butterworth-Heinemann* pp: 66-97.

- Suhartini. 2005. *Deskripsi Varietas Unggul Kacang-kacangan dan Umbi-umbian*. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Balitkabi. Malang.
- Sutjahjo SH., Abdul K dan Ika M. 2007. Efektifitas Polietelena Glikol Sebagai Bahan Penyeleksi Kalus Nilam yang diradiasi Sinar Gamma untuk Toleransi Terhadap Cekaman Kekeringan. *Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia*. Vol 9, No. 1. Pp : 48-57.
- Tjitrosoepomo G. 2005. *Morfologi Tumbuhan*. Gajah Mada University. Yogyakarta.
- Utaminingsih. 2012. Mikrosporogenesis Cabai Merah Besar (*Capsicum annum* L.) Akibat Cekaman Kekeringan. Tesis. Program Studi Biologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Van der Mescht A., J.A.de Ronde., and F.T.Rossouw. 1999. Chlorophyll fluorescence and chlorophyll content as a measure of drought tolerance in potato. *South African J. of Science* Vol 95, pp : 407-412.
- Widoretno W. 2003. Seleksi *In Vitro* untuk Toleransi Terhadap Cekaman Kekeringan Pada Kedelai (*Glycine max* (L) Meer.) dan Cara Karakterisasi Varian Somaklonal yang Toleran. Disertasi. Program Pascasarjana IPB.
- Witham., Devlin., and Robert M 1993. *Exercise in Plant Physiology*. Second Edition Prindle, Weber & Scimdt Boston.
- Yudiwanti., Sudarsono., H. Purnamawati., Yusnita., H. Hapsoro., H.A. Hemon, dan S. Soenarsih. 2008. Inovasi Teknologi Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Mendukung Kemandirian Pangan dan Kecukupan Energi. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, *Puslitbangtan, Badan Litbang Pertanian, DEPTAN*. pp: 152-161.
- Yuliawati Tia. 2014 Pendugaan Kebutuhan Air Tanaman Dan Nilai Koefisien Tanaman (Kc) Kedelai (*Glycine Max* (L) Merrill) Varietas Tanggamus Dengan Metode Lysimeter. Skripsi. Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
- Zhang J., YaoY., John GS., David CF. 2010. Influence of soil drought stress on photosynthesis, carbohydrates and the nitrogen and phosphorus absorb in different section of leaves and stem of Fuji/M.9EML, a young apple seedling. *Afr J Biotechnol* Vol 9, pp : 5320-5325.