

**KAJIAN EFEK MIKORIZA (*Rhizoctonia solanii*) DALAM KETAHANAN
PLANLET VANILI (*Vanilla planifolia* Andrews) TERHADAP CEKAMAN
KEKERINGAN SECARA *IN VITRO***

(Skripsi)

Oleh

Abdi Tauhid Liwasaputra



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

KAJIAN EFEK MIKORIZA (*Rhizoctonia solanii*) DALAM KETAHANAN PLANLET VANILI (*Vanilla planifolia* Andrews) TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN SECARA *IN VITRO*

Oleh

Abdi Tauhid Liwasputra

ABSTRAK

Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) memiliki potensi untuk dikembangkan di Indonesia serta bernilai jual tinggi. Kendala yang dihadapi dalam budidaya vanili di Indonesia antara lain musim kemarau yang berkepanjangan. *Rhizoctonia* merupakan jamur yang berperan sebagai mikoriza dan membantu dalam menyimpan hara dan air bagi tumbuhan. *Poly Ethylene Glycol* (PEG 6000) yang diberikan pada medium kultur jaringan mampu mensimulasi cekaman air. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan klorofil dan karbohidrat terlarut total planlet vanili yang diinokulasi dengan *Rhizoctonia solanii* dan diberi PEG 6000 pada konsentrasi 0%, 25% dan 35% secara *in-vitro*. Medium yang digunakan dalam penelitian yaitu medium *Murashige & Skoog* (MS) padat dengan penambahan PEG 6000. Rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan dua faktor yaitu inokulasi *R.solanii* dan PEG 6000. Data dianalisis dengan ANOVA dan uji lanjut dengan Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Analisis kandungan klorofil diuji dengan metode Harbourn (1987) dan karbohidrat dengan metode fenol-sulfur (Dubois, 1956). Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulasi *R.solanii* pada PEG 6000 taraf konsentrasi 35% mampu meningkatkan kandungan karbohidrat terlarut total batang planlet *V.planifolia*. Karakter ekspresi spesifik pada planlet *V.planifolia* yang tahan terhadap cekaman kekeringan yaitu berupa peningkatan kandungan karbohidrat terlarut total.

Kata kunci: Cekaman Air, *Poly Ethylene Glycol*, *Rhizoctonia solanii*, Vanili.

**KAJIAN EFEK MIKORIZA (*Rhizoctonia solanii*) DALAM KETAHANAN
PLANLET VANILI (*Vanilla planifolia* Andrews) TERHADAP CEKAMAN
KEKERINGAN SECARA *IN VITRO***

Oleh

Abdi Tauhid Liwasaputra

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Kajian Efek Mikoriza (*Rhizoctonia solanii*) dalam Ketahanan
Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Terhadap Cekaman
Kekeringan Secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Abdi Tauhid Liwasaputra

No. Pokok Mahasiswa : 1217021001

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Menyetujui,
1. **Komisi Pembimbing**

Pembimbing I

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

Pembimbing II

Ir. Zulkifli, M.Sc.
NIP 19600716 198604 1 001

2. **Ketua Jurusan Biologi**

FMIPA Unila

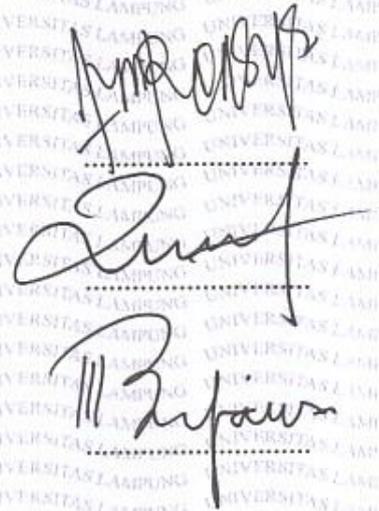
Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 19660305 199103 2 001

MENGESAHKAN

1. **Tim Penguji**
Ketua : Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.

Sekretaris : Ir. Zulkifli, M.Sc.

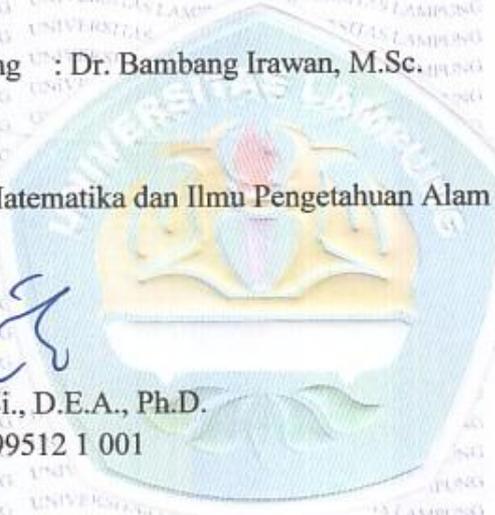
Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Bambang Irawan, M.Sc.



2. **Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D.
NIP 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 07 Oktober 2016



RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Kecamatan Metro Timur, Kota Metro, Provinsi Lampung pada tanggal 23 Juni 1994, sebagai anak pertama dari dua bersaudara, dari Bapak Sumarahno, S.Pd. dan Ibu Supini, B.A.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertama di Taman Kanak-Kanak (TK) Pertiwi Teladan Kota Metro pada tahun 1999. Pada tahun 2001, penulis melanjutkan pendidikan tingkat Sekolah Dasar di SD Pertiwi Teladan Kota Metro. Kemudian, melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMP N 4 Kota Metro pada tahun 2007. Selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan tingkat Sekolah Menengah Atas di Maderasah Aliyah Negeri 2 Kota Metro.

Pada tahun 2012, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Selama menempuh pendidikan sarjana penulis pernah menjadi Anggota Bidang Kaderisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (Himbio) FMIPA Unila. Selanjutnya penulis menjadi ketua umum Himbio FMIPA Unila periode 2014-2015. Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Kultur Jaringan.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata pada bulan Agustus - September 2015 di Tiyuh Terang Bumi Agung Kecamatan Gunung Terang, Tulang Bawang Barat. Pada bulan Februari - Maret, penulis melaksanakan Kerja Praktik di Dinas

Pertanian, Perikanan dan Kehutanan Kota Metro Bidang Tanaman Pangan dan Hortikultura (TPH) dengan judul “ **Pertumbuhan Padi Sawah (*Oryza sativa*) Varietas Ciherang yang Diberi Kombinasi Pupuk NPK, Urea, KCL dan SP36**”. Penulis melaksanakan penelitian pada bulan April - Juni 2016 di Ruang *in vitro*, Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung.

MOTO

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap.”

(QS. Al-Insyirah,6-8).

Hidup ini penuh dengan perjuangan bila ingin mencapai sesuatu, maka teruslah berjuang selama raga ini sanggup melangkah.

PERSEMBAHAN

***Segala Puji dan Syukur atas kehadiran Allah SWT,
karna berkat rizki, nikmat dan karunia-Nya yang selalu diberikan
sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.***

Karya ini ku persembahkan kepada orang-orang yang ku sayangi :

***Ayahanda (Sumarahno) dan Ibunda (Supini) yang selalu memberikan
kasih sayang, motivasi serta dukungan moril dan materilnya yang
tiada henti-hentinya, juga selalu menjadi teladan untuk
membentuk pribadi yang baik***

***Terimakasih adikku yang selama ini berjuang bersama untuk
meraih gelar sebagai seorang sarjana***

***Terimakasih ku persembahkan untuk bapak/ibu guru dan dosen
yang telah memberikan ilmu serta bimbingannya kepadaku***

Almamaterku Tercinta

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat, hidayah serta nikmat-Nya yang tak terhitung sehingga penulis mampu menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“Kajian Efek Mikoriza (*Rhizoctonia solanii*) dalam Ketahanan Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Terhadap Cekaman Kekeringan 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, selalu memberikan arahan, bantuan serta motivasi kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga selesainya skripsi ini.
2. Bapak Ir. Zulkifli, M.Sc. selaku pembimbing kedua atas arahan, saran dan bantuan kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.

3. Bapak Dr. Bambang Irawan, M.Sc. selaku Pembahas atas segala bimbingan, saran, serta tuntunan kepada penulis hingga terselesainya skripsi ini.
4. Bapak Wawan Abdullah Setiawan, M.Sc. selaku Pembimbing Akademik atas segala perhatian, bimbingan dan motivasinya kepada penulis selama 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 atas izin dan kesempatan yang diberikan sehingga penulis dapat menempuh studi di Universitas Lampung.
7. Bapak Ibu Dosen yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, terimakasih atas bimbingan dan ilmu yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh studi di Jurusan Biologi.
8. Rekan seperjuangan penelitian kultur jaringan mbak Gardis (S2), Lu'lu, Imamah, Jevica, Asri dan Aul . Kakak-kakak penelitian mbak Christi, kak Sobran, kak Adi dan mbak Eka. Terimakasih untuk semua kerjasama, kebersamaan, semangat dan saran selama menjalani penelitian.
9. Kedua orangtuaku Bapak Sumarahno, S.Pd. terimakasih selalu memberikan bimbingan , motivasi, dukungan dan semua nasihat yang luar biasa sehingga menjadi acuan semangat penulis untuk bisa menyelesaikan karya ini. Ibu

Supini, B.A. yang telah memberikan seluruh tenaga, pikiran, dukungan serta doa yang tiada hentinya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.

10. Adik kandungku Widi Tejakusuma yang berjuang bersama-sama menempuh studi di Universitas Lampung serta seluruh keluarga besar terimakasih atas semangat, dukungan serta doanya untuk penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
11. Rekan terbaik semasa kuliah Marli, Apri, Kadek, Dwi, Emil, Amanda, Fai, kak Agung, kak Robit, kak Isro, kak Ori, Nyoman, Benni, Alfi, Agung Dwi, Salma, Dian Pramudiono terimakasih atas kebersamaan selama perkuliahan hingga akhir.
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 2009, 2010, 2011, adik-adik tingkat 2013, 2014, 2015 dan seluruh Ballad HIMBIO yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih kebersamaan dan pembelajaran yang sangat berarti bagi penulis.
14. Rekan Pimpinan Himbio FMIPA Unila Periode 2014-2015 Henny, Ferza, Sabrina, Iffa, Etika, Nadia, Fhora, Propalia, Ilham, Wina, Nora, Siar, Niken, Aska, Laras, Siska terimakasih atas kerjasama, dukungan dan kerja keras selama satu tahun kepengurusan.
15. Keluarga besar KKN Tulang Bawang Barat, Lurah Tiyuh Terang Bumi Agung (TBA) Bapak Sunardi dan kelompok KKN TBA Clif, bang Dai, Fera,

Anggita, Eka dan Murti terimakasih untuk kerjasama, kebersamaan dan pembelajaran selama ini.

15. Sahabat-sahabatku MAN 2 Metro Yuyut, Berri, Catur, Agung dan Aan

18. Almamater Tercinta.

Akhir kata, Penulis menyadari bahwa masih banyak terdapat kekurangan dan kesalahan dalam penulisan ini, namun besar harapan semoga hasil tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, 28 September 2016

Penulis,

Abdi Tauhid Liwasaputra

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang dan Masalah	1
B. Tujuan Penelitian	3
C. Manfaat Penelitian	3
D. Kerangka Pikir	3
E. Hipotesis	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Deskripsi Tanaman Vanili	5
1. Morfologi	5
2. Penyebaran	6
3. Klasifikasi	7
B. Nilai Ekonomi Vanili	8
C. Cekaman Kekeringan	8
D. Rhizoctonia	10
1. Deskripsi	10
2. Simbiosis	10
E. Mekanisme Ketahanan Tumbuhan Terhadap Cekaman Kekeringan	11
F. Biosintesis Klorofil	13
G. Karbohidrat	14

III. METODE PENELITIAN	16
A. Waktu dan Tempat Penelitian	16
B. Alat dan Bahan Penelitian	16
C. Rancangan Percobaan	17
D. Bagan Alir Penelitian	19
E. Pelaksanaan Penelitian	20
1. Persiapan Medium	20
2. Inokulasi Planlet dengan <i>Rhizoctonia solanii</i>	21
3. Penanaman Planlet dalam Medium Seleksi PEG 6000	21
4. Pengamatan	22
a. Persentase jumlah planlet yang hidup	22
b. Visualisai planlet.....	22
c. Analisis Kandungan Klorofil	22
d. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total.....	23
F. Analisis data	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
A. Persentase Jumlah Planlet Hidup dan Visualisasi Planlet	26
B. Kandungan Klorofil	30
1. Klorofil a	30
2. Klorofil b.....	31
3. Klorofil Total	32
4. Kandungan Karbohidrat Total.....	33
V. SIMPULAN DAN SARAN	35
A. Simpulan	35
B. Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tata Letak Satuan Percobaan	18
2. Kode Perlakuan Satuan Percobaan.....	18
3. Pesentase Jumlah Planlet Vanili Hidup Hasil Inokulasi <i>R.Solanii</i> Terhadap PEG 6000 Pada Beberapa Konsentrasi	27
4. Pesentase Visualisasi Planlet Vanili Hidup Hasil Inokulasi <i>R.Solanii</i> Terhadap PEG 6000 Pada Beberapa Konsentrasi	27
5. Kandungan Klorofil a Daun Planlet Vanili	30
6. Kandungan Klorofil b Daun Planlet Vanili	31
7. Kandungan Klorofil Total Daun Planlet Vanili	32
8. Rata-rata Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Panlet Vanili	33
9. Komposisi Medium <i>Murashige and Skoog</i> (MS)	42
10. Jumlah Planlet yang Hidup, Visualisasi dan Karakterisasi Planlet Vanili (<i>Vanilla planifolia</i>)	43
11. Analisis Ragam <i>Two Factor</i> Klorofil a	44
12. Analisis Ragam <i>Two Factor</i> Klorofil b.....	45
13. Analisis Ragam <i>Two Factor</i> Klorofil total.....	46
14. Analisis Ragam <i>Two Factor</i> Karbohidrat Terlarut Total	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Klorofil	14
2. Bagan Alir Penelitian	19
3. Planlet Vanili Setelah Diberi Perlakuan Selama 4 Minggu	29
4. Kurva Interaksi Antara Inokulasi <i>Rhizoctonia solanii</i> dan Pemberian PEG 6000 Terhadap Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Vanili	34
1. Pembuatan Medium dengan Penambahan PEG	49
2. Penimbangan Isolat Jamur <i>Rhizoctonia solanii</i>	49
3. Pengenceran Isolat Jamur <i>Rhizoctonia solanii</i>	49
4. Penambahan Isolat Jamur <i>Rhizoctonia solanii</i> pada Medium	50
5. Penanaman Planlet Vanili Secara <i>In Vitro</i>	50
6. Penimbangan Daun Planlet Vanili Analisis Klorofil.....	50
7. Pembuatan Ekstrak Daun Planlet Vanili Analisis Klorofil.....	51
8. Larutan Klorofil Planlet Vanili	51
9. Pembuatan Ekstrak Batang Planlet Vanili Analisis Karbohidrat	51
10. Larutan Karbohidrat Planlet Vanili	52

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang dan Masalah

Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) memiliki potensi dan peluang untuk dikembangkan di Indonesia. Vanili dikenal sebagai bahan pemberi aroma pada obat-obatan, bahan baku parfum dan bidang industri pangan seperti kue, es krim, kopi, teh, susu dan lain-lain (Tombe *et al.*, 2010). Polong vanili mempunyai nilai jual melalui proses ekstraksi (Kalimuntu, 2006). Hasil ekstraksi *V. planifolia* dengan teknik maserasi menghasilkan kandungan vanilin hingga 2,3 g/l. Vanili di Indonesia merupakan komoditas lokal yang selalu diekspor karena tingginya permintaan dunia sehingga tidak digunakan di dalam negeri (Setyaningsih, 2006).

Pengembangan vanili di Indonesia masih terdapat kendala yang mengakibatkan produksi vanili tidak seimbang dengan permintaannya yang tinggi (Nurchayani *et al.*, 2012). Kendala utama yang dihadapi dalam budidaya vanili di Indonesia yaitu musim kemarau yang mengakibatkan kurangnya air pada tanah. Vanili merupakan tanaman yang sensitif terhadap pengaruh kekeringan, kekeringan menyebabkan kerusakan pada akar sehingga vanili mengalami kematian (Tombe *et al.*, 2010). Kondisi kurangnya air akibat keterbatasan air dari lingkungan tumbuhan (medium

tanam) disebut dengan cekaman kekeringan (Effendi, 2008). Salah satu upaya yang efektif untuk mengatasi cekaman kekeringan pada tanaman antara lain dengan menggunakan varietas yang tahan terhadap kekeringan. Untuk mendapatkan bibit yang baik dapat dilakukan melalui seleksi dengan teknik *in vitro* (Muliani *et al.*, 2014).

Poly Ethylene Glycol (PEG) digunakan untuk menciptakan kondisi cekaman kekeringan dengan menurunkan potensial air pada medium dalam percobaan kultur jaringan tumbuhan (Zulhilmi *et al.*, 2012). Penambahan PEG diharapkan dapat memberikan simulasi cekaman kekeringan seperti yang terjadi di alam, sehingga tanaman memberikan respons terhadap cekaman kekeringan (Rahayu *et al.*, 2005).

Pada kondisi cekaman kekeringan hifa jamur bermanfaat bagi pertumbuhan tanaman karena membantu meningkatkan hara dan air dalam jaringan akar maupun batang. *Rhizoctonia* merupakan salah satu jamur mikoriza yang menginfeksi vanili dengan adanya peloton dalam hifa intraselular (Haryuni *et al.*, 2012). Menurut Tirta (2006) pemberian jamur mikoriza berpengaruh nyata terhadap jumlah daun dan berat segar bibit vanili. Pemberian mikoriza pada vanili juga mampu mendukung penyerapan unsur Kalium (K) yang membantu tanaman untuk mempertahankan tekanan turgor sehingga penggunaan air lebih efisien. Mikoriza dapat menjadikan bibit vanili lebih tahan terhadap cekaman kekeringan sehingga mampu meningkatkan produktivitas tanaman.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Mengetahui efek *Rhizoctonia solanii* dalam ketahanan vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*,
2. Mengetahui karakter ekspresi spesifik pada planlet vanili (*V. planifolia*) yang tahan cekaman kekeringan setelah diinokulasi *Rhizoctonia solanii* secara *in vitro*.

C. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi tentang pengaruh inokulasi *Rhizoctonia solanii* terhadap ketahanan planlet vanili pada kondisi stres kekeringan secara *in vitro*. Diharapkan secara ilmiah mampu memberikan kontribusi dalam ilmu pengetahuan terutama dibidang pemuliaan tanaman dan ilmu terapan yang terkait.

D. Kerangka Pemikiran

Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) berpotensi untuk dikembangkan di Indonesia sebagai pemberi aroma dalam berbagai bidang industri. Namun ada kendala yang dihadapi dalam budidaya vanili di Indonesia antara lain musim kemarau. Pemberian *Poly Ethylene Glycol* (PEG) mampu menstimulasi kekeringan pada medium *Murashige and Skoog* (MS) secara *in vitro*. Jamur mikoriza diketahui bermanfaat bagi tanaman pada kondisi yang kurang

menguntungkan seperti cekaman kekeringan. *Rhizoctonia* merupakan salah satu jamur mikoriza yang menginfeksi vanili dengan membentuk hifa intraselular. Diharapkan inokulasi *Rhizoctonia solanii* mampu menjadikan plantet vanili lebih tahan terhadap cekaman kekeringan.

E. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Adanya efek pemberian inokulasi *Rhizoctonia solanii* dalam ketahanan vanili (*Vanilla planifolia*) terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*,
2. Terdapat karakter ekspresi spesifik pada plantlet vanili (*Vanilla planifolia*) yang tahan cekaman kekeringan setelah diinokulasi *Rhizoctonia solanii* secara *in vitro*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi Tanaman Vanili

1. Morfologi

Vanili merupakan tanaman yang tumbuh secara merambat dengan ketinggian mencapai 15 m. Tanaman vanili memiliki batang yang beruas-ruas, berwarna hijau, lemas dan berair. Tiap ruas pada batang vanili memiliki panjang sekitar 15 cm dan terdapat akar udara yang bercabang-cabang diartai bulu halus pada permukaanya. Akar pada ruas-ruas batang ini berfungsi sebagai pelekat tanaman vanili untuk merambat. Akar ini juga berfungsi untuk menyerap unsur hara jika melekat pada tanah. Selain akar, pada tiap ruas batang vanili terdapat daun (Utama, 2007). Bentuk daun yang dimiliki oleh vanili adalah lanset dengan ujung daun yang meruncing, memiliki pangkal yang membulat dan tepi daun rata. Panjangnya sekitar 8-25 cm dan lebar 2-8 cm serta memiliki warna hijau. Susunan daun vanili adalah berselang-seling pada masing-masing ruasnya dan berupa daun tunggal (Ruhnayat, 2004).

Vanili memiliki bunga yang berwarna kekuningan, berdiameter 10 cm dan bersifat hermiprodit. Bunga vanili keluar dari ketiak daun dengan tangkai yang sangat pendek (Mochtar, 2012). Bunga vanili memiliki bagian yang

disebut *rostellum*, yang merupakan lapisan pemisah antara tempat tepung sari (*anther*) dan kepala putik (*stigma*). Dengan adanya *rostellum* menyebabkan vanili tidak dapat melakukan penyerbukan secara alami dan dibutuhkan adanya bantuan tangan manusia. Hasil penyerbukan akan menghasilkan polong yang dikenal dengan buah vanila (*vanilla bean*) (Utama, 2007).

2. Penyebaran

Tanaman vanili merupakan famili anggrekan (*Orchidaceae*) sehingga membutuhkan kondisi iklim dan ekologi yang sama seperti tanaman angrek. Terdapat sekitar 110 spesies tanaman vanili, namun terdapat 3 jenis yang dibudidayakan secara komersil, yaitu ;

- a. *Vanilla planifolia*, berasal dari Mexico dan telah dibudidayakan di daerah tropis seperti di Indonesia saat ini,
- b. *Vanilla pompana*, juga berasal dari Mexico dan hanya dibudidayakan di Amerika Tengah dan Amerika Selatan, namun memiliki mutu lebih rendah dibanding *V.planifolia*.
- c. *Vanilla tahitiensis*, dibudidayakan di Tahiti, Hawaii serta Papua Newguinea dan memiliki mutu yang lebih rendah dibanding *V.planifolia* dan *V.pompana* (Utama, 2007).

Potensi alam seperti tanah, lahan dan iklim yang dimiliki Indonesia berpotensi dalam mengembangkan tanaman vanili. Tanah yang baik untuk pertumbuhan vanili yaitu memiliki unsur hara dan air yang cukup. Iklim yang dibutuhkan dalam pertumbuhan vanili adalah daerah dengan curah hujan dan kelembaban tinggi. Di Pulau Jawa terdapat beberapa daerah

yang menjadi pengembangan budidaya vanili antara lain Garut, Temanggung, Malang, Karangasem dan Gianyar (Henuhili, 2004). Daerah pengembangan vanili di Indonesia meliputi Sumatera, Jawa, Nusa Tenggara, Bali, Kalimantan, Sulawesi dan Maluku menjadi. Provinsi yang menjadi sentra produksi vanili antara lain Lampung, Sumatera Utara, Jawa Barat, Jawa Timur, Bali, Nusa Tenggara Timur, Nusa Tenggara Barat, Sulawesi Utara, Sulawesi Tengah dan Sulawesi Selatan (Ruhnayat, 2004).

3. Klasifikasi

Vanilla planifolia Andrews merupakan tanaman dari keluarga *Orchidaceae* yang saat ini berkembang di Indonesia. Vanili terdiri dari 700 genus dan 20.000 species. Klasifikasi dari Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) yaitu :

Divisio : Spermatophyta
 Classis : Angiospermae
 Subclassis : Monocotyledoneae
 Ordo : Orchidales
 Familia : Orchidaceae
 Genus : *Vanilla*
 Species : *Vanilla planifolia* Andrews

(Ruhnayat, 2004).

B. Nilai Ekonomi Vanili

Vanili Indonesia dikenal sebagai *Java vanilla bean* yang memiliki nilai jual tinggi sehingga berpotensi untuk memberikan keuntungan yang besar (Ruhnayat, 2004). Nilai jual vanili diperoleh melalui proses ekstraksi polongnya yang digunakan dalam bidang industri pangan dan kosmetik (Kalimuntu, 2006). Hasil ekstraksi polong vanili menghasilkan sumber citarasa pada pembuatan produk-produk pangan seperti es krim, puding, cake, krim, sirup, dan lain-lain (Sofyaningsih, 2011). Aroma dan citarasa vanili berasal dari kandungan vanilin yang dimilikinya. Hasil produksi tanaman vanili di Indonesia memiliki kualitas unggul dengan kadar vanilin mencapai 2,75%. Kadar vanili ini lebih tinggi dibandingkan dengan vanili dari Madagaskar (1,98%), Meksiko (1,98%), Sri Lanka (1,48%) dan Tahiti (2,02%) (Setiawan, 2004). Menurut Setyaningsih (2006) hasil ekstraksi polong *Vanilla planifolia* berumur 6-8 bulan melalui teknik maserasi menghasilkan kandungan vanilin hingga 2,3 g/l.

C. Cekaman Kekeringan

Perubahan iklim berupa kemarau yang terjadi dalam jangka waktu yang cukup lama akibat adanya *global warming* saat ini dapat menurunkan ketersediaan air tanah. Hal ini mengakibatkan minimnya kadar air yang terkandung dalam tanah (Nio Song dan Lenak., 2014).

Kondisi minimnya kadar air tanah disebut dengan cekaman kekeringan yang mempengaruhi kondisi suatu tumbuhan, sedangkan untuk melangsungkan

siklus hidupnya tanaman membutuhkan air. Ketika sumber air terbatas maka akan berdampak pada berkurangnya pertumbuhan tanaman (Purwanto & Agustono, 2010). Menurut Song (2011) ketika kondisi air minim maka proses penyerapan unsur hara yang terlarut dalam tanah akan terhambat seperti halnya nitrogen dan magnesium yang sangat penting dalam sintesis klorofil sehingga terjadi adanya penurunan kandungan klorofil. Kondisi cekaman air berpengaruh terhadap proses fisiologis, biokimia, anatomis dan morfologis pada tumbuhan.

Tumbuhan yang mengalami cekaman kekeringan akan memperlihatkan perbedaan secara morfologis yang meliputi jumlah daun, luas permukaan akar, panjang akar, diameter akar, bobot kering serta rasio tajuk akar jika dibandingkan dengan kondisi tanpa cekaman kekeringan (Parwata, 2014).

Cekaman kekeringan termasuk kedalam faktor abiotik yang sangat memberikan pengaruh terhadap produktivitas suatu tanaman (Djazuli, 2011). Dalam menghadapi kondisi cekaman kekeringan tumbuhan mampu melakukan mekanisme ketahanan dengan memberikan respon secara morfologis, anatomis maupun tingkat sel dengan cara memodifikasi bagian tumbuhan itu sendiri (Porcel *et al.*, 2005).

D. Rhizoctonia

1. Deskripsi

Mikoriza dapat dijumpai pada hampir setiap perakaran tanaman tingkat tinggi. Mikoriza anggrekan bersifat endomikoriza dengan menginfeksi jaringan korteks. *Rhizoctonia* merupakan jamur mikoriza yang bersimbiosis dengan anggrek sehingga disebut juga dengan jamur mikoriza anggrekan. Jamur mikoriza anggrekan terdapat beberapa kelompok genus antara lain *Rhizoctonia*, *Tulasnella* dan *Ceratobasidium*. (Setiawati, 2014).

Sebutan mikoriza anggrekan diberikan untuk jamur mikoriza yang ada pada tanaman anggrek baik kecambah anggrek maupun anggrek dewasa (Fitriana, 2007). Menurut Ningsih *et al.*, (2014) pemberian jamur *Rhizoctonia* pada anggrek macan mampu meningkatkan pertumbuhan tinggi, jumlah daun dan jumlah akar planlet anggrek macan yang tidak diberikan nutrisi tambahan secara signifikan.

2. Simbiosis

Dalam siklus hidup anggrek membutuhkan adanya infeksi jamur mikoriza. Keberadaan hifa jamur *Rhizoctonia* diketahui mampu menstimulasi perkecambahan benih anggrek melalui produksi etilen dan vitamin (Setiawati, 2014). Jamur tipe ini membentuk peloton, peloton adalah struktur hifa yang berupa lilitan padat (Kasiamdari, 2000). Peloton menjadi ciri khas dari jamur mikoriza yang mempunyai fungsi untuk menyuplai karbon dan nutrien, adanya peloton dapat dijumpai pada

periode tertentu sebelum kemudian lisis sehingga dapat dikatakan masa hidup peloton ini terbatas. Mikoriza anggrek memiliki potensi untuk dimanfaatkan dalam pertumbuhan vanili, yaitu sebagai agens hayati penyakit busuk batang akibat *Fusarium* sp. dan meningkatkan penyerapan air dan nutrisi dengan adanya hifa eksternal mikoriza anggrek dalam tanah yang melebihi rambut-rambut akar vanili (Setiawati, 2014).

Hubungan mikoriza anggrekan terhadap cekaman kekeringan berkaitan dengan air dan hifa, hifa memperluas bidang serapan air dan hara (Musfal, 2010). Air sangat penting karena berfungsi sebagai pelarut unsur hara dan berperan dalam fotosintesis (Agung & Rahayu, 2004). Menurut Haryuni (2012) adanya *Rhizoctonia* binuklead (BNR) yang diinokulasi dalam bibit vanili menyebabkan perubahan fisiologis serta meningkatkan ketahanan bibit vanili terhadap cekaman kekeringan.

E. Mekanisme Ketahanan Tumbuhan Terhadap Cekaman Kekeringan

Cekaman kekeringan menjadi faktor eksternal yang berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman (Farooq *et al.*, 2009). Dampak akibat cekaman kekeringan pada tumbuhan antara lain menghambat proses fotosintesis, kandungan pigmen dan keseimbangan osmotik dalam tumbuhan. Proses adaptasi yang terjadi dalam tumbuhan akibat cekaman kekeringan ini berbeda satu sama lain tergantung tahap-tahap yang ada dalam perkembangan tumbuhan itu sendiri (Anjum *et al.*, 2011). Menurut Purwanto dan Agustono (2010) cekaman kekeringan pada tingkat yang berat mampu mengakibatkan

menutupnya stomata pada daun. Penutupan stomata pada daun ini mengakibatkan penyerapan karbondioksida terhambat dan menurunkan berat kering pada tumbuhan.

Mekanisme ketahanan yang dilakukan tumbuhan pada kondisi cekaman kekeringan yaitu dengan mempertahankan status air dalam jaringan agar metabolisme pada tumbuhan tetap berjalan dan mampu toleran terhadap cekaman kekeringan (Palupi & Dedywiryanto, 2008). Salah satu cara yang dilakukan tumbuhan dalam menghadapi cekaman kekeringan yaitu dengan menggulung daunnya dengan tujuan untuk menurunkan laju evaporasi. Proses ini berlangsung dengan adanya sel kipas yang mana ketika kekurangan air maka jumlah dan ukuran sel kipas meningkat sehingga daun dapat menggulung (Nio Song dan Lenak, 2014).

Bentuk adaptasi sebagai respon terhadap kekeringan, dapat berupa perubahan pertumbuhan seperti penurunan pertumbuhan batang dan daun. Selain adanya penurunan pertumbuhan, juga terjadi perubahan secara biokimia seperti adanya akumulasi senyawa organik yang bertujuan untuk menjaga keseimbangan osmotik dalam tubuh tumbuhan (Arve *et al.*, 2011). Bentuk adaptasi untuk mempertahankan keseimbangan tekanan osmotik pada tumbuhan dilakukan dengan mengakumulasi senyawa-senyawa terlarut seperti gula, asam amino dan kandungan prolin (Khaerana, Ghulamahdi, Purwakusumah, 2008).

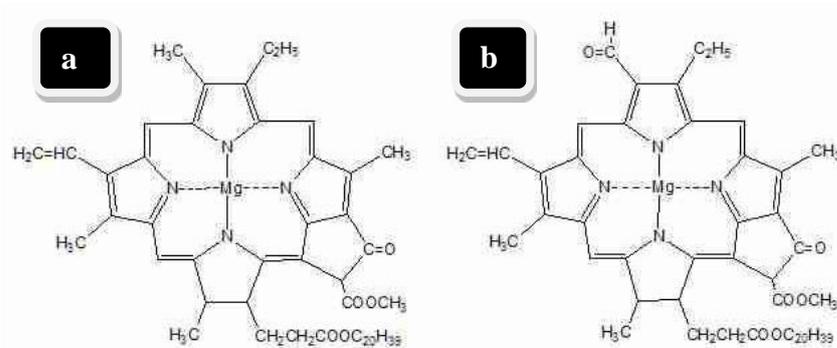
F. Biosintesis Klorofil

Klorofil adalah pigmen hijau yang memiliki peran dalam fotosintesis. Klorofil berada di dalam kloroplas, kloroplas berasal dari proplastida atau plastida yang masih belum dewasa, berukuran kecil dan hampir tidak berwarna. Kloroplas berada dalam jaringan parenkim spons dan parenkim palisade daun tingkat tinggi (Salisbury dan Ross, 1991). Klorofil adalah pigmen dalam kloroplas yang berperan dalam proses fotosintesis. Melalui fotosintesis tumbuhan dapat membentuk senyawa organik dan O_2 dari senyawa anorganik (CO_2 dan H_2O) dengan bantuan cahaya matahari (Song, 2011).

Klorofil memiliki sifat fisik maupun sifat kimia. Sifat fisik yang dimiliki klorofil yaitu akan memantulkan cahaya yang berpendar atau berlainan. Sinar yang akan diserap adalah sinar merah dan biru dengan panjang gelombang sinar antara 400-700 nm. Sifat kimia pada klorofil adalah tidak larut dalam air namun larut pada senyawa yang lebih polar seperti etanol (Dwidjoseputro, 1994). Klorofil disintesis oleh daun, dalam prosesnya terdapat beberapa faktor yaitu gula, cahaya, air, karbohidrat, peratur dan unsur – unsur (N, Fe, Mg, Mn, Cu, Zn, S, dan oksigen) (Hendriyani dan Nantya, 2009).

Klorofil yang ada pada tumbuhan terdapat 2 macam yaitu klorofil a ($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$) berwarna hijau tua dan klorofil b ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$) yang berwarna hijau lebih muda. Panjang gelombang yang diserap oleh klorofil a dan b paling besar adalah 600-700 nm yang merupakan cahaya berwarna merah. Cahaya yang paling sedikit untuk diserap adalah cahaya dengan

panjang gelombang 500-600 nm atau berwarna hijau, kemudian cahaya biru akan diserap oleh karotenoid (Song, 2011). Struktur klorofil a dan b disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur klorofil a). Klorofil a, b). Klorofil b (Nio Song dan Banyo, 2011).

Klorofil memiliki keterkaitan terhadap cekaman kekeringan sebagai respon fisiologis suatu tumbuhan, dengan adanya pengaruh kekeringan maka konsentrasi klorofil daun akan menurun akibat terhambatnya penyerapan zat dalam unsur hara yang penting dalam sintesis klorofil seperti magnesium dan nitrogen (Song, 2011). Menurut Fitter dan Hay (1994) kekurangan air akan mempengaruhi reaksi-reaksi biokimia dalam proses fotosintesis, yang berdampak pada penurunan laju fotosintesis. Akibat fotosintesis yang menurun ini juga akan menghambat sintesis klorofil (Hendriyani dan Nantya, 2009).

G. Karbohidrat

Karbohidrat merupakan senyawa yang mengandung unsur C, H, dan O yang terdapat pada tumbuhan hingga 75%. Rumus senyawa kimia karbohidrat yaitu $C_n(H_2O)_n$ atau $C_nH_{2n}O_n$ (Wiratmaja, 2011).

Karbohidrat terdapat berbagai macam diantaranya sukrosa, glukosa dan fruktan. Kandungan karbohidrat terlarut total tepat digunakan dalam analisis terhadap cekaman kekeringan. Kandungan karbohidrat berperan dalam mengatur tekanan osmotik pada cekaman kekeringan yang dapat dilihat dari batang tumbuhan karena batang merupakan organ yang banyak mengandung konsentrasi gula dan menunjukkan karakterisasi perubahan genotip pada kondisi tercekam. Selain pada batang kandungan karbohidrat juga dapat dijumpai pada akar dan daun, perubahan karbohidrat terlarut total berpengaruh secara langsung terhadap respon fisiologis seperti fotosintesis dan respirasi (Kerepesi dan Galiba, 2000).

Kandungan karbohidrat merupakan parameter yang digunakan dalam analisis dasar biosains. Dalam analisis kandungan karbohidrat terdapat berbagai metode. Metode yang mudah dan akurat dalam pengukuran gula murni pada oligosakarida, proteoglikan, glikoprotein dan glikolipid adalah metode fenol-sulfur. Adanya kandungan karbohidrat terlarut membantu tumbuhan dalam mempertahankan kehidupan pada kondisi cekaman (Masuko *et al.*, 2005). Ketika mengalami cekaman kekeringan hasil fotosintesis mengalami penurunan, saat hasil produksi tidak lagi mencukupi maka pemecahan molekul karbohidrat terlarut dapat digunakan untuk mempertahankan proses metabolisme (Zang *et al.*, 2010). Menurut Mafakheri *et al.*, (2010) tanaman yang mengalami kondisi cekaman kekeringan akan meningkatkan kandungan karbohidrat terlarut total.

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan Februari sampai dengan bulan April 2016 di Laboratorium Botani (ruang penelitian *in vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan Penelitian

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, *Autoclave*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF) ESCO, pinset, *scalpel*, mata pisau *scalpel*, kertas filter, Erlenmeyer berukuran 50 ml, cawan petri berdiameter 10 cm, corong, botol kultur berukuran 250 ml, gelas ukur bervolume 100 ml dan 500 ml, kertas label, mikroskop, mikropipet, pipet tip, spektrofotometri (*Shimudzu UV 800*), tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan analitik Ohaus, tisu, waterbatt, dan kamera nikon coolpix.

Bahan yang digunakan adalah planlet *Vanilla planifolia* steril dalam botol kultur yang diperoleh dari koleksi pribadi Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., isolat jamur *Rhizoctonia solanii* yang diperoleh dari Temanggung, *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000, alkohol 70 %, akuades, *Benzine Amino Purine*

(BAP), *Indole-3-Acetic Acid* (IAA), sukrosa, *Plant Preservative Mixture* (PPM), Kalium Hidroksida (KOH), Asam Chlorida (HCl), serta bahan kimia medium *Murashige & Skoog* (MS) padat yang komposisinya disajikan dalam Lampiran 1.

Bahan yang digunakan untuk analisis klorofil a,b dan total yaitu aseton proanalitik, pada analisis karbohidrat terlarut total bahan yang digunakan yaitu Fenol dan Asam Sulfat (H₂SO₄), serta bahan kimia medium *Murashige & Skoog* (MS) padat yang komposisinya disajikan dalam Lampiran 1.

C. Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian ini disusun dengan pola dasar Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) yang terdiri dari dua faktor, yaitu inokulasi *Rhizoctonia* dengan 2 taraf [V₀ (tidak diinokulasi *Rhizoctonia*) dan V₁ (diinokulasikan *Rhizoctonia*)] dan konsentrasi *Poly Ethylene Glycol* (PEG 6000) dengan 3 taraf [P₀ (0%), P₁ (25%) dan P₂ (35%)]. Parameter yang digunakan dalam analisis yaitu kandungan klorofil a, b dan total serta kandungan karbohidrat terlarut total. Data dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan uji lanjut dengan Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Masing-masing konsentrasi dilakukan 4 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 2 planlet *V.planifolia* Andrews dalam setiap botol kultur. Tata letak satuan percobaan seleksi planlet *V.planifolia* Andrews secara *in vitro* disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Tata letak satuan percobaan

	U ₁		U ₂		U ₃		U ₄	
	V ₀	V ₁	V ₁	V ₂	V ₁	V ₂	V ₁	V ₂
P ₀	V ₃ P ₃	V ₄ P ₁	V ₄ P ₃	V ₁ P ₀	V ₂ P ₃	V ₁ P ₁	V ₁ P ₃	V ₆ P ₂
P ₁	V ₁ P ₄	V ₃ P ₂	V ₆ P ₄	V ₃ P ₁	V ₂ P ₁	V ₃ P ₄	V ₅ P ₂	V ₅ P ₃
P ₂	V ₆ P ₁	V ₅ P ₁	V ₄ P ₂	V ₆ P ₃	V ₂ P ₄	V ₄ P ₄	V ₁ P ₂	V ₅ P ₄

Keterangan :

V₀ = Inokulasi dengan *Rhizoctonia*

V₁ = Tidak diinokulasi dengan *Rhizoctonia*

P₀ = PEG 6000 konsentrasi 0%

P₁ = PEG 6000 konsentrasi 25%

P₂ = PEG 6000 konsentrasi 35%

U₁ = Ulangan ke 1

U₂ = Ulangan ke 2

U₃ = Ulangan ke 3

U₄ = Ulangan ke 4

Tabel 2. Kode perlakuan satuan percobaan

Kode Perlakuan	Perlakuan Inokulasi	Taraf Konsentrasi PEG6000
V ₀ P ₀	Tanpa Inokulasi <i>Rhizoctonia</i>	0%
V ₀ P ₁	Tanpa Inokulasi <i>Rhizoctonia</i>	25%
V ₀ P ₂	Tanpa Inokulasi <i>Rhizoctonia</i>	35%
V ₁ P ₀	Diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	0%
V ₁ P ₁	Diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	25%
V ₁ P ₂	Diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	35%

Keterangan :

V₀ = Inokulasi dengan *Rhizoctonia*

V₁ = Tidak diinokulasi dengan *Rhizoctonia*

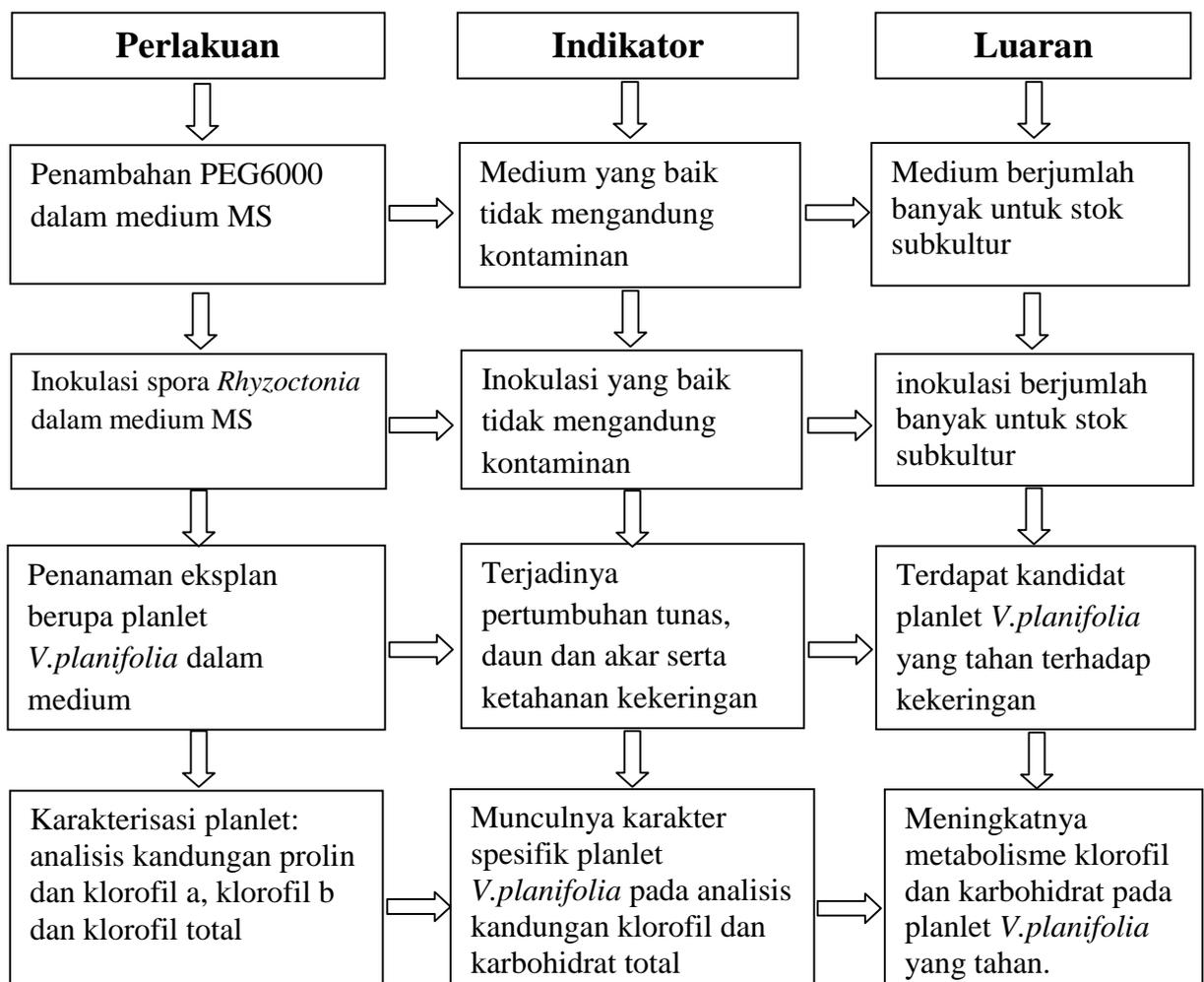
P₀ = PEG 6000 konsentrasi 0%

P₁ = PEG 6000 konsentrasi 25%

P₂ = PEG 6000 konsentrasi 35%

D. Bagan Alir Penelitian

Penelitian yang dilakukan terdiri atas beberapa tahap, yaitu: 1) Pemberian *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 dan isolat *Rhizoctonia solanii* dalam medium *Murashige & Skoog* (MS); 2) Penanaman *Vanilla.planifolia* Andrews pada medium penelitian secara *in vitro*; 3.) Penentuan pengaruh inokulasi *R.solanii* dan PEG 6000 terhadap planlet *V.planifolia*; 4) Analisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet *V. planifolia* terhadap cekaman kekeringan yang meliputi visualisasi planlet, persentase jumlah planlet yang hidup, analisis kandungan klorofil a,b dan total serta karbohidrat terlarut total. Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti tercantum pada Gambar 2.



Gambar 2. Bagan alir Penelitian

E. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa langkah sebagai berikut.

1. Persiapan medium

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Murashige & Skoog* (MS) padat. Pembuatan medium tanam MS sebanyak 1 liter adalah dengan cara memipet sejumlah larutan stok (Lampiran 1), kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 1 liter. Akuades ditambahkan sampai tanda (1 liter) dan pH diatur sampai 5,5. Untuk mendapatkan pH 5,5 dilakukan penambahan KOH 1 N atau HCl 1 N. Larutan tersebut kemudian dipindahkan ke dalam wadah yang lebih besar kemudian ditambahkan agar-agar sebanyak 7 g/l, sukrosa 30 g/l, dan PPM 0,5 ml/l. Larutan medium dipanaskan untuk melarutkan agar-agar (sambil diaduk) sampai mendidih. Penambahan ZPT dilakukan setelah larutan medium diangkat, kemudian dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 20 ml/botol. Sterilisasi medium menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5 psi, 121⁰C selama 15 menit.

Medium *Murashige & Skoog* (MS) padat selanjutnya ditambah *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 dengan konsentrasi 0% (kontrol), 25% , dan 35%. Sebelum digunakan, PEG 6000 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.

2. Inokulasi *Rhizoctonia solanii*

Inokulasi *Rhizoctonia solanii* dilakukan secara langsung pada medium tanam vanili secara *in vitro* dengan menambah larutan isolat *R. solanii* sebanyak 0,1 ml dengan konsentrasi $2,3 \times 10^6$ sel/ml yang dimasukkan pada medium *Murashige & Skoog* (MS) dan diinkubasikan pada suhu kamar selama 72 jam.

3. Penanaman Planlet Pada Medium Penelitian

Eksplan yang digunakan berupa planlet steril. Planlet-planlet dari botol kultur dikeluarkan dengan *scalpel* steril dan satu-persatu diletakkan di atas cawan petri berdiameter 10 cm, kemudian planlet dipilah satu-persatu, setelah itu ditanam pada masing-masing botol kultur yang berisi medium perlakuan yang telah ditentukan seperti pada butir 2) di atas. Masing-masing konsentrasi dilakukan 4 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 2 eksplan vanili dalam setiap botol kultur.

4. Pengamatan

a. Persentase jumlah planlet yang hidup

Penghitungan persentase jumlah planlet hidup vanili dengan menggunakan rumus:

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

(Nurcahyani, 2014)

b. Visualisasi planlet

Meliputi warna planlet setelah diberikan perlakuan inokulasi *Rhizoctonia solanii* dan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 dengan klasifikasi sebagai berikut: hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna cokelat dan cokelat.

c. Analisis kandungan klorofil

Bahan untuk analisis kandungan klorofil menggunakan daun planlet vanili yang sudah diberikan perlakuan inokulasi *Rhizoctonia* dan PEG 6000, menggunakan metode Harbourne (1987) dengan spektrofotometer. Daun planlet vanili sebanyak 0,1 g dihilangkan ibu tulang daunnya, digerus dengan mortar, ditambahkan 10 mL aseton 80%. Larutan disaring dengan kertas *Whatman* No. 1 dan dimasukkan ke dalam flakon lalu ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar (aseton 80%) di ambil sebanyak 1 mL, dimasukkan dalam kuvet. Setelah itu dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang () 646 nm dan 663 nm, dengan tiga kali ulangan setiap sampel.

Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

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

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

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

d. Analisis kandungan karbohidrat terlarut total

Analisis kandungan karbohidrat terlarut total dilakukan dengan metode fenol-sulfur (Dubois, 1956). Planlet vanili diambil dan ditimbang sebanyak 0,1 gram. Kemudian ditumbuk dengan mortar lalu diberi 10 ml akuades, disaring dengan kertas saring *Whatman* no. 1 lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi.

Selanjutnya filtrat diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan 1 ml H₂SO₄, kemudian ditambahkan fenol sebanyak 2 ml. Selanjutnya filtrat dimasukkan kedalam kuvet dan dibaca pada panjang gelombang 490 nm.

Kandungan karbohidrat terlarut total dihitung dengan cara membuat larutan standar glukosa yang terdiri dari beberapa konsentrasi kemudian diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm.

Hasil absorbansi larutan standar dibuat persamaan regresi linier sehingga diperoleh persamaan: $Y = ax + b$. Nilai absorbansi sampel selanjutnya dimasukkan sebagai nilai Y sehingga didapatkan nilai x (μ /mol).

F. Anilisa Data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet vanili 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. Analisis ragam dilakukan pada taraf nyata 5% dan uji lanjut dengan uji BNT.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Simpulan yang diperoleh dari hasil penelitian ini meliputi:

1. Pemberian inokulasi *Rhizoctonia solanii* dan *Poly Ethylene Glycol* (PEG 6000) taraf konsentrasi 35% pada planlet vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) menunjukkan adanya ketahanan planlet terhadap cekaman kekeringan.
2. Karakter ekspresi yang spesifik pada planlet vanili (*Vanilla planifolia*) yang diberikan inokulasi *Rhizoctonia solanii* dan PEG 6000 yaitu berupa peningkatan kandungan karbohidrat terlarut total.

B. Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan mengenai konsentrasi pemberian inokulasi isolat *Rhizoctonia solanii* yang optimum untuk digunakan serta analisis parameter lain seperti kandungan prolin, indeks stomata dan infeksi *Rhizoctonia solanii* pada akar planlet.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Agung, T.D.H & A.Y. Rahayu. 2004. Analisis Efisiensi Serapan N, Pertumbuhan dan Hasil. *Agrosains 6*: 70-74
- Anjum, S.A., X.Y. Xie., L.C.Wang., M.F. Salem., C. Man., & W. Lei. 2011. Morphological, Physiological, and Biochemical Responses of Plants to Drought Stress. *African J. of Agric. Res. 6(9)*: 2026 – 2032.
- Arve, L.E., S.Torre., J.E. Olsen., & K.K.Tanino.2011. *Stomatal Responses to Drought Stress and Air Humidity, Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations*, Arun Shanker and B. Venkateswarlu (Ed.), ISBN: 978-953-307-394-1, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/abiotic-stress-in-plants-mechanisms-andadaptations/stomatal-responses-to-drought-stress-and-air-humidity>.
- Banyo Y.E, N.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*
- Dubois, m., Gille, KA, Hamilton, JK, Rebers PA dan Smith, F. 1956. Colometri method for Determination of Sugars and Related Substance. *Anal. Biochem 28(1956)*: 143-145.
- Djazuli M. 2010.Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Pertumbuhan dan Beberapa Karakter Morfo-Fisiologis Tanaman Nilam. *Bul. Littro. Vol. 21 No. 1, 2010, 8 – 17*
- Dwidjoseputro. 1994. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. Pustaka Gramedia. Jakarta.
- Effendi, Y. 2008. Kajian Resistensi Beberapa Varietas Padi Gogo (*Oryza sativa* L.) Terhadap Cekaman Kekeringan. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. *Tesis*. Tidak Dipublikasikan.

- Farooq, M., A. Wahid., N.Kobayashi., D. Fujita., & S.M.A. Basra.2009. *Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management*. Agron. Sustain. Dev. 29 (2009): 185– 212. online at: www.agronomy-journal.org
- Fitriana, A.H., Hussein. L., H. Mohammad, & A.H. Shiraniraid. 2007. Effects of Arbuscular Mucorrhizal Fungi, Different Levels Of Phosphorus And Drought Stress On Water Use Efficiency, Relative Water Content And Proline Accumulation Rate of Coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Journal Of Medicinal Plant Research* 2: 125-131
- Fitriany, R.A.M., Suhadi, Sunarmi. 2013. Studi Keanekaragaman Tumbuhan Herba pada Area Tidak Bertajuk Blok Curah Jarak Di Hutan Musim Taman Nasional Baluran. Universitas Negeri Malang. *Jurnal*. Tidak Dipublikasikan.
- Fitter, A.H. dan R.K.M. Hay. 1994. *Fisiologi Lingkungan Tanaman*. Diterjemahkan oleh: Sri Andani dan E.D. Purbayanti. Gadjah Mada University Press. 421 Hal.
- Gunawan L.W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Harborne J.B. 1987. *Metode Fitokimia dan Penurunan cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh : K. Padmawinata dan I. Joediro. Cetakan ke 2. Penerbit ITB. Bandung, hal : 234-244
- Haryati. 2003. Pengaruh Cekaman Air Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman. *Digitized by USU digital library*.
- Haryuni. 2012. Kajian *Rhizoctonia binukleat* Sebagai Mikoriza dan Peranannya dalam Meningkatkan Ketahanan Bibit Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Terhadap Cekaman Kekeringan. *Disertasi*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Haryuni, Soemarah K.D .T., Titik Nuryati. 2015. Pengaruh Dosis *Rhizoctonia binukleat* (Bnr) dan Pupuk Posfor Terhadap Pertumbuhan Benih Vanili (*Vanilla planifolia* Andrew). *The 2nd University Research Coloquium 2015 ISSN 2407-9189*
- Hendriyani, I. S. dan Nantya, S. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. *Jurnal Sainsdan Matematika*. 17 (3).

- Henuhili, V. 2004. Budidaya Tanaman Vanili. Universitas Negeri Yogyakarta. *Artikel*. Tidak Dipublikasikan
- Jamil, M.S. 2015. Seleksi *In Vitro* Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Resisten Terhadap Cekaman Kekeringan dengan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000. *Skripsi*. Universitas Lampung, Lampung.
- Kasiamdari, R.S. 2000. Binukleat *Rhizoctonia* Isolate from Mycorrhizal Pot Cultu: Its Morphological Characteristics and Pathogenicity. *Jurnal biologi* 2:615-628
- Kalimuthu, K, Senthilkumar, R. & Murugalatha, N. 2006. Regeneration and Mass Multiplication of *Vanilla planifolia* Andr. a Tropical Orchid. *Current Science* Vol. 91, No. 10, 25.
- Kerepesi, I dan Galiba, G. 2000. Osmotic and Salt Stress-Induced Alteration in Soluble Carbohydrate Content in Wheat Seedlings. *Crop Science* 40(2000): 482-487.
- 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.* 36: 241-247
- 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., Minami, A., Norimasa, I, Majima, Tokifumi., Nishimura, S dan Lee, Y. 2005. Carbohydrate Analysis by a Phenol-Sulfuric Acid Method in Microplate Format. *Anal. Biochem.* 339 (2005) 69-72.
- Mochtar M. 2012. Prospek Pemberian Alkohol Alifatis untuk Peningkatan Produksi Vanilli (Tinjauan Secara Fisiologis Tanaman). *Primordia.* Vol 8 : 2
- Muliani, Nur, Y. Damayanti, F. & Neni Rostini. 2014. Seleksi *In Vitro* Enam Kultivar Kentang (*Solanum Tuberosum* L.) Hasil Iradiasi Sinar Gamma untuk Toleransi Kekeringan Menggunakan Manitol . *Agric. Sci. J. – Vol. I (4) : 71-79 (2014).*
- Mushfal. 2010. Potensi Cendawan Mikoriza Arbuskula untuk Meningkatkan Hasil Tanaman Jagung. *Jurnal Litbang Pertanian* 29 : 154-158
- Ningsih, R. Ambardini, S. dan Denofia. 2014. Peranan Jamur *Rhizoctonia* sp. Asal Taman Nasional Rawa Aopa Watumohai Sulawesi Tenggara Terhadap Keberhasilan

Aklimatisasi dan Laju Pertumbuhan Planlet Anggrek Macan (*Grammatophyllum Scriptum* Bl.). *Al-Kaunyah Jurnal Biologi Volume 7 Nomor 2*.

Nio Song dan Banyo, Y. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains. 11 (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. Sumardi, I. Hadisutrisno, B. & Suharyanto, E. 2012. Penekanan Perkembangan Penyakit Busuk Batang Vanili (*Fusarium oxysporum* F.Sp. *Vanillae*) Melalui Seleksi Asam Fusarat Secara *In Vitro*. *J. Hpt Tropika. Issn 1411-7525 Vol. 12, No. 1: 12 – 22*.

Nurchayani E, B. Hadisutrisno, I Sumardi, 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 Hal. 272-279*.

Palupi E.R dan Y. Dedywiryanto. 2008. Kajian Karakter Ketahanan terhadap Cekaman Kekeringan pada Beberapa Genotipe Bibit Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Bul. Agron. (36) (1) 24 – 32*.

Parwata, I.G.M. Indradewa, D. Yudono, P. Kertonegoro, B.D. & Kusmarwiyah, R. 2014. Respon Perumbuhan dan Hasil Tanaman Jarak (*Jatropha curcas*) Terhadap Cekaman Kekeringan di Lahan Pasir Pantai pada Tahun Pertama Siklus Produksi. *J. Agron. Indonesia 42 (1) : 59-6*.

Purwanto dan T. Agustono. 2010. Kajian Fisiologi Tanaman Kedelai Pada Berbagai Kepadatan Gulma Teki dalam Kondisi Cekaman Kekeringan. *J. Agroland 17 (2) : 85 – 90*

Peterson, R.L., P. Bonfante., A Faccio, & Y. Uestake. 1996. The Interface Between Fungal Hyphae & Orchid Protocorm Cell. *Canadian. Journal of Botany 74:1861-1870*.

Porcell, R., Azco, R dan Ruiz-Lozano, JM., 2005. Evaluation of The Role of Genes Encoding For Dehydrin Proteins (LEA D-11) During Drought Stress in Arbuscular Mycorrhizal *Glycine max* and *Lactuca sativa* Plants. *Journal of Experimental Botany 56 (417): 1933-1942*.

- Rahayu, E.S., Guhardja, E., Ilyas, S dan Sudarsono. 2005. Polietilena Glikol (PEG) dalam Media *In Vitro* Menyebabkan Kondisi Cekaman yang Menghambat Tunas Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.). *Berk. Penel. Hayati* 11: 39-48.
- Ruhnayat A. 2004. *Bertanam Panili Si Emas Hijau nan Wangi*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Savitri, ES. 2010. Pengujian *In vitro* Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine max* L.Merr) Toleran Kekeringan Menggunakan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 pada Media Padat dan Cair. *El-Hayah Vol. 1 No.2*.
- Salisbury F.B dan W.C. Ross.1991. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 2. ITB, Bandung
- Setiawan, I. 2004. Transformasi Model Pengembangan Vanili (*Vanilla Planifolia* A.) sebagai Komoditas Agribisnis Unggulan Menuju Penguasaan Pasar Dunia Secara Berkelanjutan (Studi Literatur di Indonesia). Universitas Padjajaran. Bandung. *Artikel*. Tidak di Publikasikan
- Setiawati, R. 2014. *Orchid Mycorrhiza*, Peran dan Manfaatnya dalam Bidang Perlindungan Tanaman Perkebunan. *Artikel*. Tidak di Publikasikan
- Setyaningsih, D. Rusli, MS. Melawati & Mariska, I. 2006. Optimasi Proses Maserasi Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Hasil Modifikasi Proses Curing. *Jurnal Teknol dan Industri Pangan, Vol XVII, no. 2*.
- Sofyaningsih, M. Sugiono & Setyaningsih, D. 2011. Retensi Vanilin dan Perubahan Ekstrak Pekat Warna Vanili Selama Penyimpanan. *Jurnal Tenol dan Indusri Pangan Vol. XXII No.2*.
- Tombe M, Sukamto, Zulhisnain, dan E. Taufiq. 2004 . Budidaya Vanili dengan Menggunakan Teknologi Bio-Fob. Putlisbang Tanaman Perkebunan. Balitro
- Tombe, M. 2010. Teknologi Ramah Lingkungan Dalam Pengendalian Penyakit Busuk Batang Vanili. *Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian* 3(2), 2010: 138-158. Bogor.
- Utama, I.M.S. 2007. Prosedur Operasional Standar (*Standard Operating Procedure*) Budidaya Tanaman Panili Organik. Universitas Udayana. Bali. *Artikel*. Tidak Dipublikasikan

Wiratmaja, I. G., dkk., 2011. Pembuatan Etanol Generasi Kedua dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut *Eucheuma cattonii* sebagai Bahan Baku. *Jurnal ilmiah teknik mesin*. Vol. 5 (1): 75-84.

Yunasfi. 2002. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Perkembangan Penyakit dan Penyakit Yang Disebabkan oleh Jamur

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 Fugi/M.9EML, a young apple seedling. *Afr J Biotechnol* Vol 9, pp : 5320-5325.

Zulhilmi, Suwirman dan Netty W S. 2012. Pertumbuhan dan Uji Kualitatif Kandungan Metabolit Sekunder Kalus Gatang (*Spilanthus acmell* Murr) dengan Penambahan PEG untuk Menginduksi Cekaman Kekeringan. *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J.BIO.UA)* 1 (1) :1-8.