

**KAJIAN EFEK ASAM SALISILAT TERHADAP *DROUGHT STRESS*
PADA PLANLET SAWI CAISIM (*Brassica rapa* L.) SECARA *IN VITRO***

(Skripsi)

Oleh

Siska Fajarwati



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2017**

ABSTRAK

KAJIAN EFEK ASAM SALISILAT TERHADAP *DROUGHT STRESS* PADA PLANLET SAWI CAISIM (*Brassica rapa* L.) SECARA *IN VITRO*

Oleh
Siska Fajarwati

Sawi (*Brassica rapa* L.) merupakan salah satu jenis tanaman hortikultura yang mempunyai nilai ekonomis yang cukup tinggi. Salah satu masalah dalam menurunnya produksi sawi adalah cekaman kekeringan yang terjadi pada musim kemarau. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi toleran asam salisilat dan PEG 6000 yang resisten terhadap cekaman kekeringan serta untuk mengetahui interaksi antara asam salisilat terhadap *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 pada kombinasi perlakuan terbaik terhadap kandungan karbohidrat terlarut total, klorofil a, b, dan total serta indeks stomata. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan November 2016 sampai Januari 2017 di Laboratorium Botani (ruang penelitian *in vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Rancangan penelitian ini disusun dengan pola rancangan acak lengkap faktorial 3x3 yang terdiri dari dua faktor yaitu faktor A: Asam Salisilat dengan 3 taraf konsentrasi yaitu 0 ppm, 70 ppm, 80 ppm dan faktor B: PEG 6000 b/v dengan 3 taraf konsentrasi yaitu 0% , 50%, dan 60% dengan 4 kali ulangan. Parameter yang diamati adalah karbohidrat terlarut total, kandungan klorofil a, b, dan total serta indeks stomata. Homogenitas ragam dilakukan dengan uji Levene kemudian dianalisis ragam pada taraf nyata 5% dan dilanjutkan dengan analisis *simple effect* dan Uji BNT pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi asam salisilat yang toleran untuk seleksi planlet sawi caisim dalam kondisi cekaman kekeringan adalah 80 ppm, konsentrasi toleran PEG 6000 yang mampu menyeleksi planlet sawi caisim yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro* adalah 50% dan 60%. Konsentrasi asam salisilat 80 ppm dan PEG 6000 60% meningkatkan kandungan karbohidrat terlarut total dan indeks stomata serta konsentrasi asam salisilat 80 ppm dan PEG 6000 50% meningkatkan kandungan klorofil a,b, dan total.

Kata kunci : *Brassica rapa* L., *Drought Stress*, PEG 6000, Asam salisilat, *in vitro*

KAJIAN EFEK ASAM SALISILAT TERHADAP *DROUGHT STRESS* PADA PLANLET
SAWI CAISIM (*Brassica rapa* L.) SECARA *IN VITRO*

Oleh

Siska Fajarwati

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS

pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Penmgetahuan Alam



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017

Judul Skripsi : **KAJIAN EFEK ASAM SALISILAT TERHADAP
DROUGHT STRESS PADA PLANLET SAWI
CAISIM (*Brassica rapa L.*) SECARA *IN VITRO***

Nama Mahasiswa : **Siska Fajarwati**

No. Pokok Mahasiswa : 1317021070

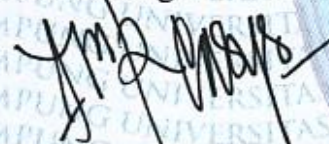
Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I



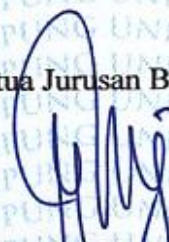
Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.
NIP. 19651031 199203 2 003

Pembimbing II



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

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

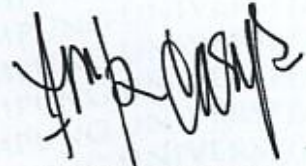


Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP. 19660305 199103 2 001

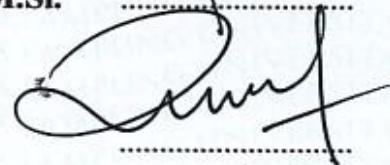
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

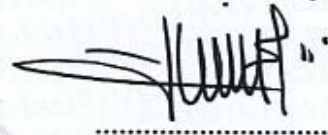
Ketua : **Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.**



Sekretaris : **Ir. Zulkifli, M.Sc.**



Penguji
Bukan Pembimbing : **Dra. Yulianty, M.Si.**



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 : **20 April 2017**

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung, pada tanggal 02 September 1994 sebagai anak keenam dari enam bersaudara, dari Bapak Anniwali, S.Sos dan Ibu Nurhaida, A.Ma.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di TK RA Islamiyah dan menyelesaikannya pada tahun 2001, selanjutnya penulis menempuh pendidikan dasar di SDN 2 Tanjung Gading dan menyelesaikannya tahun 2007, pendidikan tingkat menengah hingga tahun 2010 di SMPN 1 Bandar Lampung. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di MAN 2 Bandar Lampung dan menyelesaikannya tahun 2013. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menempuh pendidikan di kampus Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Biosistemika Tumbuhan dan Genetika. Selain itu penulis juga aktif di dunia organisasi kampus.

Aktifitas organisasi penulis dimulai sejak menjadi Anggota Muda Biologi (Amuba) tahun 2013–2014. Selanjutnya penulis di Himpunan Mahasiswa Biologi

(Himbio) FMIPA Unila sebagai Bendahara Biro Kesekretariatan dan Pengembangan Diri pada tahun 2014-2015 dan menjadi Anggota Biro Kesekretarian dan pada tahun 2015-2016 .

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Tulang Bawang Kecamatan Penawar Aji Desa Suka Makmur dari bulan Januari - Maret 2016. Pada bulan Juli-September 2016 Penulis melaksanakan Kerja Praktik di Laboratorium Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Pringsewu dengan judul **“Pembuatan Pupuk Cair PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) dan Aplikasi pada Tanaman Padi (*Oryza sativa*) di Laboratorium Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Gadingrejo Kabupaten Pringsewu”**. Penulis melaksanakan penelitian pada bulan November 2016 – Januari 2017 di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

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. Kupersembahkan karya ini sebagai cinta kasihku, tanda bakti dan rasa terima kasihku kepada :

Bapak dan Ibu yang selalu kusayangi, yang telah memberikan cinta dan kasih sayang serta doa yang tiada hentinya.

Para guru dan dosen yang telah medidik dan mengajarku hingga hari ini dengan dedikasi dan keikhlasannya.

Kelima kakak perempuanku yang terus memberi dukungan dan memotivasiku untuk terus berkarya.

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.



MOTTO

Ketahuiilah 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)

“Man Jadda Wa Jadda”

Barang siapa yang bersungguh-sungguh akan
mendapatkannya

SANWACANA

Puji syukur kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul “**Kajian Efek Asam Salisilat Terhadap Drought Stress Pada Planlet Sawi Caisim (*Brassica rapa L.*) Secara In Vitro**”. Shalawat teriring salam semoga tercurahkan kepada Rasulullah SAW beserta keluarga dan sahabat serta umatnya di akhir zaman, Aamiin.

Sebelumnya penulisan Skripsi ini tidak terlepas dari perhatian, bimbingan, masukan, arahan, nasehat serta dalam menyelesaikan studi. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada Ibu **Dr. Endang Nurcahyani, M.Si**, selaku pembimbing I dan kepada Bapak **Ir. Zulkifli, M.Sc**, selaku pembimbing II yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran, memberikan arahan, saran, serta motivasi dalam membimbing penulis dalam penelitian hingga terselesainya skripsi ini.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan pula kepada :

1. Ibu Dra. Yulianty, M.Si selaku Pembahas atas segala bimbingan, motivasi, saran, serta semangat kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.

2. Bapak Dr. Sumardi, M.Si. selaku Pembimbing Akademik atas bimbingan, kritik, dan sarannya kepada penulis dalam menempuh pendidikan di Jurusan Biologi.
3. Kepala Laboratorium Botani, Jurusan Biologi FMIPA Unila beserta seluruh staf teknisi, yang telah memberikan izin, fasilitas, dan bantuannya selama penulis melakukan penelitian.
4. Ketua Jurusan Biologi, Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam serta Rektor Universitas Lampung atas semua fasilitas yang diberikan.
5. 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.
6. Kedua orangtuaku Bapak Anniwali, S.Sos terimakasih selama masa hidupmu telah membimbing, mengajari dan memberikan dukungan, dengan selalu mengingatkanmu menjadi acuan semangat penulis untuk bisa menyelesaikan karya ini. Ibu Nurhaida, A.Ma yang telah memberikan seluruh tenaga, pikiran, semangat dukungan serta doa yang tiada hentinya, dan nasehat-nasehat sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
7. Kakak-kakak perempuanku, Mariana Ekawati, S.T, Ferina Dwi Putri, S.Pd, Almh. Septina Triyanti, S.Si, Meivina Indriani, S.Pd, dan Martina Adriati, S.Pd serta Nenekku tercinta terimakasih atas semangat, dukungan serta doanya untuk penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

8. Teman-teman seperjuangan penelitian Bioteknologi Tumbuhan – Kultur Jaringan Ariska, Ferza, Adhe, Ira, Sita Ellia, dan Milla terimakasih untuk semua kerjasama, kebersamaan, semangat, saran dan kritik serta doanya selama menjalani penelitian.
9. Kakak- kakak penelitian Bioteknologi Tumbuhan – Kultur Jaringan mba Lulu, mba Asri, kak Abdi, Mba Asri, Mba Jevica terimakasih untuk semua ilmu, semangat, saran dan kritik serta doanya selama menjalani penelitian.
10. Sahabat Wanita Sholehahku Bella Noor Arfianty, Niswaton Hasanah, Nadia Eka Yulian, Bella Rizcikal dan Firda Nur Islami terimakasih atas kebersamaan selama ini dari awal masuk perkuliahan hingga akhir selalu ada untuk penulis.
11. Sahabat SMA (6 Butirku) Anis, Nisa, Kiki, Eva, dan Neni terima kasih atas kebersamaan yang masih terjalin sampai saat ini, semoga silaturahmi kita dapat terjalin sampai kapanpun.
12. Sahabat seperjuangan angkatan Biologi 2013 yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terimakasih atas kebersamaan, dukungan serta doanya selama ini.
13. Kakak tingkat Biologi 2010, 2011, 2013 adik-adik tingkat 2014, 2015, 2016, dan seluruh Wadya Ballad HIMBIO yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih kebersamaan dan pembelajaran yang sangat berarti bagi penulis.

14. Keluarga besar KKN Tulang Bawang Kecamatan Penawar Aji dan kelompok KKN Nunuy, Yeyen, Alin, Indah, Minto, dan Bang Wahyu terimakasih untuk pengalaman, pembelajaran serta kebersamaannya selama 60 hari.

15. Almamater Tercinta.

Akhir kata, Penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat dan berguna bagi semua pihak, berguna bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya.

Bandar Lampung, April 2017

Penulis,

Siska Fajarwati

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
PERSEMBAHAN	vi
MOTTO	vii
SANWACANA	viii
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Manfaat Penelitian	5
D. Kerangka Pemikiran	5
E. Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tanaman Sawi Caisim	
1. Sejarah Tanaman Sawi Caisim	7
2. Klasifikasi Tanaman Sawi Caisim	8
3. Morfologi Tanaman Sawi Caisim	8

4. Kandungan Gizi Tanaman Sawi Caisim	10
B. Asam Salisilat	10
C. <i>Poly Ethylene Glycol</i> (PEG)	11
D. Kultur Jaringan	13
E. Cekaman Kekeringan	14
F. Respon Tanaman Terhadap Cekaman Kekeringan	15
G. Karbohidrat	17
H. Klorofil	18
I. Stomata	19
III. METODE PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu	21
B. Alat dan Bahan	21
C. Rancangan Penelitian	22
D. Bagan Alir Penelitian	24
E. Pelaksanaan Penelitian	
1. Persiapan Medium Seleksi	26
2. Induksi benih dengan Asam Salisilat	27
3. Penanaman benih dalam Medium Seleksi PEG 6000	27
F. Pengamatan	
1. Persentase jumlah planlet yang hidup	28
2. Visualisasi planlet	28
3. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total	28
4. Analisis Kandungan Klorofil	29
5. Analisis Indeks Stomata	30
G. Analisis Data	30
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Persentase Jumlah Planlet Hidup dan Visualisasi Planlet	33
B. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total	39
C. Analisis Kandungan Klorofil	
1. Analisis Kandungan Klorofil a	42
2. Analisis Kandungan Klorofil b	44
3. Analisis Kandungan Klorofil Total	45
D. Indeks Stomata	49
V. SIMPULAN DAN SARAN	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	64

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Gizi Sawi Caisim (<i>Brassica rapa</i> L.)	10
2. Notasi faktor taraf kombinasi perlakuan	23
3. Tata Letak Satuan Percobaan	23
4. Persentase Jumlah Planlet Hidup	33
5. Persentase Visualisasi Planlet	35
6. Rata-rata Kandungan karbohidrat terlarut total	39
7. Rata-rata Kandungan Klorofil a	42
8. Rata-rata Kandungan Klorofil b	44
9. Rata-rata Kandungan Klorofil Total	46
10. Rata-rata Indeks Stomata	51
11. Komposisi medium <i>Murashige dan Skoog</i> (MS)	65
12. Jumlah Planlet Hidup dan Visualisasi Planlet Per-Minggu	66
13. Rata-rata, Standar Deviasi, Ragam, Standar Error, dan Koefisien Keragaman Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total.....	72
14. Hasil analisis <i>simple effect</i> Kandungan Karbohidrat Terlarut Total	76
15. Rata-rata, Standar Deviasi, Ragam, Standar Error, dan Koefisien Keragaman Analisis Kandungan Klorofil a	76
16. Hasil analisis <i>simple effect</i> Kandungan Klorofil a	80
17. Rata-rata, Standar Deviasi, Ragam, Standar Error, dan Koefisien Keragaman Analisis Kandungan Klorofil b	81
18. Hasil analisis <i>simple effect</i> kandungan Klorofil a	85
19. Rata-rata, Standar Deviasi, R agam, Standar Error, dan Koefisien Keragaman Analisis Kandungan Klorofil Total	85
20. Hasil analisis <i>simple effect</i> Kandungan Klorofil Total	89
21. Rata-rata, Standar Deviasi, Ragam, Standar Error, dan Koefisien Keragaman Indeks Stomata	90
22. Hasil analisis <i>simple effect</i> Indeks Stomata	94

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi Tanaman Sawi Caisim (<i>Brassica rapa</i> L.)	8
2. Struktur Asam Salisilat	11
3. Struktur <i>Poly Ethylene GlycoL</i>	12
4. Struktur Klorofil (A). Klorofil a, (B). Klorofil b	19
5. Bagan Alir Penelitian	25
6. Planlet Sawi Caisim Umur 3 minggu	37
7. Kurva Interaksi Antara Asam Salisilat dan PEG Terhadap Kandungan Karbohidrat Terlarut Total	40
8. Kurva Interaksi Antara Asam Salisilat dan PEG Terhadap Kandungan Klorofil a	43
9. Kurva Interaksi Antara Asam Salisilat dan PEG Terhadap Kandungan Klorofil b	45
10. Kurva Interaksi Antara Asam Salisilat dan PEG Terhadap Kandungan Klorofil Total	47
11. Permukaan Bawah daun Planlet Sawi Caisim	50
12. Kurva Interaksi Antara Asam Salisilat dan PEG Terhadap Indeks Stomata	52
13. Pembuatan medium <i>Murashige and Skoog</i> (MS)	95
14. Penambahan PEG 6000 ke dalam medium <i>Murashige and Skoog</i> (MS)	95
15. Penanaman benih sawi caisim di dalam medium MS	96
16. Benih caisim yang telah ditanam di dalam medium MS	96
17. Pembuatan ekstrak daun planlet sawi caisim analisis klorofil dan karbohidrat	97
18. Larutan klorofil planlet sawi caisim	97
19. Larutan karbohidrat planlet sawi caisim	98
20. Sentrifuge larutan untuk analisis karbohidrat dan klorofil	98
21. Pengamatan indeks stomata daun planlet sawi caisim	99

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang dan Masalah

Sawi caisim (*Brassica rapa* L.) adalah salah satu tanaman hortikultura yang mempunyai nilai komersial dan prospek yang cukup cerah. Jumlah penduduk Indonesia yang semakin bertambah, serta meningkatnya kesadaran akan kebutuhan gizi menyebabkan bertambahnya permintaan akan sayuran seperti sawi caisim. Hal ini terjadi karena sawi caisim memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi. Setiap 100 g sawi terdapat protein 2,30 g; lemak 0,30 g; karbohidrat 4,00 g; Ca 220,00 mg; P 38,00 mg; Fe 2,90 mg; vitamin A 1.940,00 mg; vitamin B 0,09 mg; dan vitamin C 102 mg (Yulia dkk., 2011).

Menurut Badan Pusat Statistik (2015), produksi sawi caisim di Indonesia dari tahun 2010, 2011, 2012, 2013, dan 2014 berturut-turut adalah 583,770; 580,969; 594,934; 635,728; dan 602,478 ton. Berdasarkan data tersebut diketahui produksi sawi caisim mengalami peningkatan dan penurunan hasil panen secara fluktuatif. Mengingat pentingnya keberadaan produksi sawi caisim maka perlu dilakukan peningkatan dari tahun ke tahun.

Perubahan musim tertentu mempengaruhi pertumbuhan tanaman, satu diantaranya adalah musim kemarau. Produktivitas sawi caisim yang menurun

salah satunya disebabkan oleh cekaman kekeringan yang terjadi pada musim kemarau yang berkepanjangan. Pada musim kemarau tanaman sawi caisim dapat mengalami defisit air yang mengakibatkan cekaman air pada tanaman. Jika demikian, defisit air akan menyebabkan penurunan gradien potensial air antara tanah, akar, daun, dan atmosfer, sehingga laju transpor air dan hara menurun yang dapat mempengaruhi hasil bobot segar tanaman sawi (Taiz and Zeiger, 2002).

Menurut Savitri (2010), *Poly Ethylene Glycol* (PEG) dapat digunakan sebagai komponen penyeleksi yang dapat mensimulasikan cekaman lingkungan. Penggunaan PEG 6000 bertujuan untuk menyeleksi tanaman yang resisten terhadap cekaman kekeringan yang dapat digunakan dalam medium cair maupun medium padat. *Poly Ethylene Glycol* (PEG) merupakan suatu senyawa kimia yang mengandung aktivitas matriks sub unit etilen oksida yang mampu menurunkan potensial osmotik dengan mengikat molekul air menggunakan ikatan hidrogen. Ukuran molekul dan konsentrasi PEG mempengaruhi besar kecilnya potensial osmotik yang terjadi (Rahayu dkk., 2005).

Mekanisme ketahanan tanaman terhadap penyakit dapat berupa ketahanan secara fisik maupun kimia. Salah satu bentuk ketahanan secara kimia adalah pembentukan asam salisilat. Terbentuknya asam salisilat pada tanaman sebagai respon terhadap serangan patogen sebagai bentuk resistensi.

Asam salisilat adalah senyawa fenolik yang berperan sebagai fitohormon penting. Beberapa studi telah menunjukkan bahwa asam salisilat juga berperan dalam proses fisiologis seperti pertumbuhan dan perkembangan, respirasi,

penuaan, perkecambahan biji, dan pertumbuhan bibit. Selain itu, penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa asam salisilat berperan dalam tekanan biotik dan abiotik (Vicente and Plasencia, 2011). Asam salisilat dapat mengatur respons terhadap logam berat (Popova *et al.*, 2012), suhu rendah (Tasgin *et al.*, 2003), suhu tinggi (Khan *et al.*, 2003), salinitas (Yusuf dkk., 2008), dan kekeringan (Shen *et al.*, 2014). Selain itu, penelitian lain telah menunjukkan bahwa asam salisilat berperan positif dalam menanggapi tanaman yang diberikan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) yang dapat mensimulasikan kondisi cekaman kekeringan (He *et al.*, 2014). Tanaman yang diberikan asam salisilat umumnya memiliki resistensi terhadap kekurangan air juga mengurangi efek negatif dari stres kekeringan pada pertumbuhan tanaman.

Berdasarkan penelitian Susilowati (2015), kisaran asam salisilat yang toleran untuk seleksi *Phalaenopsis amabilis* secara *in vitro* adalah 15-60 ppm, sementara Bidabadi *et al.* (2012), melaporkan bahwa penggunaan asam salisilat dapat memperbaiki ketahanan planlet pisang berangan terhadap kondisi cekaman kekeringan. Penggunaan asam salisilat pada medium tanpa *Poly Ethylene Glycol* (PEG) memberikan efek pada peningkatan klorofil secara signifikan, sedangkan penggunaan asam salisilat pada medium PEG level 3% memberikan efek terhadap peningkatan kandungan klorofil dan prolin.

Afa *et al.* (2012) melaporkan seleksi *in vitro* telah diteliti dalam meningkatkan tanaman resisten terhadap cekaman kekeringan diantaranya tanaman padi hibrida pada konsentrasi 25% dalam larutan PEG 6000, cukup efektif untuk menduga toleransi terhadap kekeringan; kondisi lapangan dengan kapasitas

100% pada berbagai varietas nilam menghasilkan tanaman nilam yang resisten yaitu pada varietas Girilaya (*Pogostemon heyneanus* Benth) (Djazuli, 2010), dan uji kualitatif kandungan metabolit sekunder kalus gatang terjadi penurunan berat basah kalus yang signifikan pada pemberian 5% PEG (Zulhilmi dkk., 2012).

Sejauh ini belum pernah dilaporkan secara pasti dan tepat efek asam salisilat terhadap *drought stress* pada planlet sawi caisim. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh asam salisilat pada kondisi cekaman kekeringan yang distimulan oleh PEG 6000 pada planlet sawi caisim secara *in vitro*.

B. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui :

1. Konsentrasi asam salisilat yang toleran untuk seleksi planlet sawi caisim yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.
2. Konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk seleksi planlet sawi caisim yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.
3. Interaksi antara asam salisilat dan PEG 6000 pada kombinasi perlakuan yang terbaik terhadap kandungan karbohidrat terlarut total, kandungan klorofil a, b dan total serta indeks stomata pada planlet sawi caisim.

C. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai penggunaan asam salisilat untuk memperbaiki resistensi planlet sawi caisim dengan simulasi cekaman kekeringan menggunakan PEG 6000.

Planlet yang resisten terhadap cekaman kekeringan diharapkan dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang pemuliaan tanaman, dan ilmu terapan yang terkait.

D. Kerangka Pemikiran

Tanaman sawi caisim (*Brassica rapa* L.) merupakan salah satu jenis tanaman hortikultura yang mempunyai nilai ekonomis yang cukup tinggi. Sawi caisim juga kaya akan serat dan memiliki kandungan gizi yang tinggi yang dibutuhkan untuk menunjang kelangsungan hidup masyarakat di Indonesia.

Cekaman kekeringan bisa terjadi pada tanaman sawi caisim (*Brassica rapa* L.) pada kondisi tertentu yang dapat mengakibatkan terjadinya defisit air. Apabila hal ini terjadi maka dapat mempengaruhi hasil bobot segar tanaman sawi.

Poly Ethylen Glycol (PEG) dapat digunakan sebagai komponen penyeleksi yang dapat mensimulasikan cekaman kekeringan. Seleksi *in vitro* telah diteliti dalam menghasilkan tanaman resisten terhadap cekaman kekeringan diantaranya tanaman padi hibrida pada konsentrasi 25% dalam larutan PEG 6000, cukup efektif untuk menduga toleransi terhadap kekeringan.

Salah satu ketahanan secara kimia adalah penggunaan asam salisilat yang lebih dominan untuk mengatasi serangan patogen biotrof (patogen yang aktif pada

jaringan hidup) dan virus. Pada tumbuhan terbentuknya asam salisilat merupakan respon terhadap serangan patogen sebagai bentuk pertahanan diri. Penggunaan asam salisilat dapat memperbaiki ketahanan planlet pisang berangan terhadap kondisi cekaman kekeringan.

Pendekatan dengan seleksi *in vitro* telah mampu menghasilkan varietas tanaman yang resisten terhadap cekaman kekeringan diantaranya pada tanaman nilam, kacang tanah, dan jagung

E. Hipotesis

1. Terdapat konsentrasi asam salisilat yang toleran untuk seleksi planlet sawi caisim yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.
2. Terdapat konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk seleksi planlet sawi caisim yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.
3. Terdapat interaksi antara asam salisilat dan PEG 6000 pada kombinasi perlakuan yang terbaik terhadap kandungan karbohidrat terlarut total, kandungan klorofil a, b, dan total serta indeks stomata planlet sawi caisim.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sawi Caisim

1. Sejarah Tanaman Sawi Caisim

Daerah asal tanaman sawi caisim diduga dari Tiongkok dan Asia Timur, konon di daerah Tiongkok, tanaman ini telah dibudidayakan sejak 2.500 tahun yang lalu, kemudian menyebar luas ke Filipina dan Taiwan. Masuknya sawi caisim ke wilayah Indonesia diduga pada abad XIX. Bersamaan dengan lintas perdagangan jenis sayuran sub-tropis lainnya, terutama kelompok kubis-kubisan. Daerah pusat penyebaran sawi caisim antara lain Cipanas, Lembang, Pengalengan, Malang dan Tosari. Terutama daerah yang mempunyai ketinggian diatas 1.000 meter dari permukaan laut (Susila, 2006).

Pada umumnya sawi caisim diusahakan petani di dataran rendah, yaitu di pekarangan, di ladang, atau di sawah, jarang diusahakan di daerah pegunungan. Sawi caisim termasuk tanaman yang tahan terhadap hujan sehingga dapat ditanam sepanjang tahun, sedangkan pada musim kemarau diperlukan air yang cukup untuk penyiraman (Haryanto dkk, 2003). Tanah yang cocok untuk ditanam sawi caisim adalah tanah gembur, banyak mengandung humus, subur, memiliki drainase dan aerasi yang baik, serta memiliki pH 6-7. Daerah

penanaman yang cocok adalah mulai dari ketinggian 5 meter sampai dengan 1.200 meter dari permukaan laut (Haryanto dkk, 2003).

2. Klasifikasi Tanaman Sawi Caisim

Klasifikasi tanaman sawi menurut sistem Cronquist (1981) sebagai berikut.

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak Kelas : Dilleniidae

Bangsa : Capparales

Suku : Brassicaceae

Marga : *Brassica*

Jenis : *Brassica rapa* L.

3. Morfologi Tanaman Sawi Caisim

Morfologi tanaman sawi disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi tanaman sawi (*Brassica rapa* L.)
(Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2016)

Sawi caisim termasuk jenis tanaman sayuran dan tergolong kedalam tanaman semusim (berumur pendek). Daun caisim berbentuk bulat dan lonjong, lebar dan sempit, ada yang berkerut-kerut (keriting), tidak berbulu, berwarna hijau muda, hijau keputih-putihan sampai hijau tua. Daun memiliki tangkai panjang dan pendek, sempit atau lebar berwarna putih sampai hijau, bersifat kuat dan halus. Daun memiliki tulang-tulang daun yang menyirip dan bercabang-cabang. Sawi memiliki sistem perakaran akar tunggang (*radix primaria*) dan cabang-cabang akar yang bentuknya bulat panjang (silindris). Akar-akar ini berfungsi menyerap unsur hara dan air dari dalam tanah, serta menguatkan berdirinya batang tanaman (Haryanto dkk, 2003).

Sawi caisim merupakan tumbuhan dikotil, memiliki akar tunggang. Batang berkambium dan bercabang, Daun bertulang sejajar atau melengkung, menyirip atau menjari. Umumnya bagian bunga berjumlah 2, 4 dan 5 atau kelipatannya. Batang caisim pendek sekali dan beruas-ruas sehingga hampir tidak kelihatan. Batang ini berfungsi sebagai alat pembentuk dan penopang daun. Sawi caisim berdaun lonjong, halus, tidak berbulu dan tidak berkrop. Pada umumnya pola pertumbuhan daunnya berserak atau roset (Cahyono, 2003).

Sawi umumnya mudah berbunga dan berbiji secara alami baik di dataran tinggi maupun di dataran rendah. Struktur bunga sawi tersusun dalam tangkai bunga yang tumbuh memanjang dan bercabang banyak. Tiap kuntum bunga sawi terdiri atas empat helai kelopak daun, empat helai mahkota daun, bunga berwarna kuning cerah, empat helai benang sari dan satu buah putik yang berongga dua (Wicaksono 2008).

4. Kandungan Gizi Tanaman Sawi Caisim

Sawi caisim (*Brassica rapa* L.) sebagai bahan makanan sayuran mengandung berbagai zat gizi yang cukup lengkap sehingga apabila dikonsumsi baik untuk mempertahankan kesehatan tubuh. Kandungan gizi sawi caisim (*Brassica rapa* L.) disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Gizi Sawi Caisim (*Brassica rapa* L.) setiap 100 gram

No.	Komposisi	Jumlah
1	Kalori	22,00 k
2	Protein	2,30 g
3	Lemak	0,30 g
4	Karbohidrat	4,00 g
5	Serat	1,20 g
6	Kalsium (Ca)	220,50 mg
7	Fosfor (P)	38,40 mg
8	Besi (Fe)	2,90 mg
9	Vitamin A	969,00 SI
10	Vitamin B1	0,09 mg
11	Vitamin B2	0,10 mg
12	Vitamin B3	0,70 mg
13	Vitamin C	102,00 mg

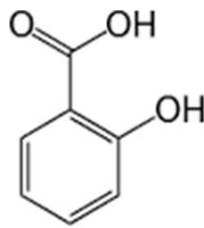
Sumber : Direktorat Kesehatan RI, 1981.

B. Asam Salisilat

Asam salisilat adalah zat pengatur tumbuh (hormon pertumbuhan tanaman) endogen yang berasal dari senyawa fenol di alam. Hormon pertumbuhan ini secara aktif terlibat dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman, serta beberapa proses fisiologis lain seperti perkecambahan, pematangan buah, pembungaan, fotosintesis, konduktansi stomata, pengambilan dan transport ion, biogenesis kloroplas, interaksi dengan organisme lain, dan perlindungan tanaman dari beberapa stres (tekanan) lingkungan seperti ozon, radiasi ultraviolet, salinitas, pembekuan, herbisida, logam berat, stres osmotik, dan

kekeringan. Asam salisilat bertindak sebagai sinyal yang terlibat dalam ekspresi respon khusus pada tanaman untuk stres biotik dan abiotik (Ahanger, *et al.*, 2014).

Asam salisilat memiliki rumus molekul C_6H_4COOH berbentuk kristal kecil berwarna merah muda terang, hingga kecokelatan yang memiliki berat molekul sebesar 138, 123 g/mol dengan titik leleh sebesar $156\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan densitas pada $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ sebesar 1,443 g/ml (Purnomo dkk., 2007). Asam salisilat memiliki struktur bangun kimia seperti yang disajikan pada Gambar 2 berikut.



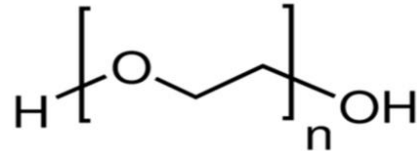
Gambar 2. Struktur Asam Salisilat (Fessenden dan Fessenden, 1986).

C. *Poly Ethylene Glycol* (PEG)

Poly Ethylene Glycol (PEG) dapat dibedakan satu sama lain berdasarkan berat molekulnya (BM) atau *Molecular Weight* (MW). Berat molekul PEG berdasarkan penyebutan atau penulisannya seperti PEG MW 1650, PEG MW 3000, PEG MW 6000 yang semuanya merupakan polymer. Beberapa PEG yang efektif terhadap fusi protoplas memiliki berat molekul adalah PEG 1540 berat molekul 1300-1600, PEG 4000 berat molekul 3000-3700 dan PEG 6000 berat molekul 6000-7000. Penggunaan PEG tersebut yang perlu diperhatikan

adalah toksisitas, sifat PEG, kadar PEG optimal dan PEG yang terbaik (Suryowinoto, 1996).

Struktur bangun kimia PEG 6000 di sajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur *Poly Ethylene Glycol* (Anonymous, 2016).

Sebagai agen penyeleksi, PEG 6000 dinyatakan lebih unggul dibandingkan manitol, sorbitol, atau garam karena tidak bersifat toksik terhadap tanaman (Verslues *et al.*, 1998), tidak dapat diserap oleh sel akar (Chazen dan Neumann, 1994), dan secara homogen menurunkan potensial osmotik larutan.

Poly Ethylene Glycol (PEG) memiliki dua sifat yakni pertama bersifat memacu adhesi antar protoplas dan kedua bersifat mengganggu lapisan-lapisan rangkap phospholipid. Kadar optimal penggunaan PEG pada tanaman perlu diperhatikan dosisnya tergantung dari beberapa faktor yakni berat molekulnya, macam tanaman, kondisi ruang yang digunakan untuk inkubasi, temperatur, cahaya, besar kadar PEG yang dipakai dan lain-lain. Berdasarkan berat molekulnya pemakaian PEG 6000 bisa lebih efektif digunakan jika kadar keencerannya ditingkatkan. Pemakaian PEG dengan berat molekul kadar tinggi dapat membuat protoplas tidak normal, terjadinya torsi, bahkan protoplas banyak yang pecah, sedangkan pemakaian PEG dengan berat molekul rendah seperti PEG 1000 presentase fusi kurang tinggi dan kurang memuaskan (Suryowinoto, 1996).

D. Kultur Jaringan

Kultur jaringan terdiri dari dua kata, kultur yang berarti budidaya dan jaringan yaitu sekumpulan sel yang memiliki bentuk dan fungsi yang sama. Kultur jaringan merupakan jaringan tanaman yang dibudidayakan menjadi tanaman kecil memiliki sifat yang sama seperti induknya (Hendrayono dan Wijayanti, 1994).

Pemuliaan tanaman dalam kultur jaringan tumbuhan mempunyai manfaat yaitu menciptakan klon-klon tanaman yang efektif dan murah serta bebas dari virus saat diisolasi. Manfaat lainnya adalah menghasikan genotip-genotip tanaman yang diinginkan secara cepat dan ekonomis dalam pembuatannya (Welsh, 1991).

Tujuan dilakukannya kultur jaringan pada tumbuhan adalah untuk meregenerasikan jaringan kalus, memperbanyak sel, regenerasi tanaman secara keseluruhan dan identifikasi seleksi mutan-mutan alami yang terinduksi secara potensial untuk memperbanyak genotip yang diinginkan (Welsh, 1991).

Medium pada metode *in vitro* dalam teknologi kultur jaringan terdiri dari beberapa komposisi medium. Komposisi medium pada kultur jaringan tumbuhan mengandung 5 kelompok senyawa-senyawa unsur hara. Senyawa-senyawa medium tersebut terdiri atas garam-garam organik, sumber karbon, vitamin, zat pengatur tumbuh dan pelengkap organik (Wetter and Constabel, 1991).

Garam organik terdiri dari kadar kalium dan nitrat sekurang-kurangnya 20-25 nm. Sumber karbon pada medium terdiri dari sukrosa atau glukosa 2-4%.

Vitamin sangat bermanfaat untuk meningkatkan pertumbuhan kultur sel tunggal seperti tiamin, piridoksin, asam nikotinat dan mio inositol. Pengatur tumbuh dibutuhkan dalam menginduksi sel. Beberapa senyawa yang sering digunakan sebagai pengatur tumbuh yakni asam 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Naphthalene Acetic Acid (NAA) pada kadar 0,1-50 mg/l. Medium pelengkap organik adalah air kelapa, ekstrak ragi, hidrolisat protein yang dapat memasok berbagai senyawa yang bertujuan untuk merangsang laju pertumbuhan sel (Wetter and Constabel, 1991).

E. Cekaman Kekeringan

Cekaman kekeringan merupakan kondisi dimana minimumnya kadar air dalam tanah yang berhubungan dalam pertumbuhan dan produksi tanaman. Cekaman kekeringan pada tanaman berdampak pada laju pelebaran daun, indeks luas daun, menutupnya stomata, pengurangan pengambilan karbon dioksida serta penurunan berat kering jika cekaman air pada tanaman terlalu parah. Cekaman kekeringan pada tanaman menyebabkan menurunnya laju fotosintesis, penutupan stomata, penurunan pertumbuhan daun serta perubahan indeks luas daun (Purwanto dan Agustono, 2010).

Cekaman kekeringan merupakan pengaruh faktor lingkungan yang menyebabkan air tidak tersedia bagi tanaman, yang dapat disebabkan antara lain oleh tidak tersedianya air di daerah perakaran tanaman dan kebutuhan air yang besar di daerah daun dimana laju evaporasi melebihi laju absorpsi air oleh akar (Hamim, 2004).

Setiap tanaman harus dapat menyeimbangkan antara proses kehilangan air dan proses penyerapannya, bila proses kehilangan air tidak diimbangi dengan penyerapan melalui akar maka akan terjadi kekurangan air di dalam sel tanaman yang dapat menyebabkan berbagai kerusakan pada banyak proses dalam sel tanaman (Taiz and Zeiger, 2002).

Tanaman yang toleran terhadap cekaman kekeringan terjadi mekanisme mempertahankan turgor agar tetap di atas nol sehingga potensial air jaringan tetap rendah dibandingkan potensial air eksternal sehingga tidak terjadi plasmolisis (Jones and Turner, 1980).

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 morfo-fisiologis untuk menghindari dari cekaman kekeringan. Tanaman akan menghindari dari cekaman kekeringan dengan memanjangkan akar untuk mencari sumber air dalam permukaan tanah (Djazuli, 2010).

F. Respon Tanaman Terhadap Cekaman Kekeringan

Islami dan Utomo (1995) menyatakan bahwa tanaman yang menderita cekaman air secara umum mempunyai ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan tanaman yang tumbuh normal. Bila terjadi cekaman air seringkali terjadi penurunan ukuran volume sel dan luas daun yang biasanya akan mengurangi kehilangan air dan menunda permukaan kekurangan air yang lebih

berat, penurunan ukuran sel menyebabkan tekanan hidrostatik dan tekanan turgor juga ikut menurun.

Respon tumbuhan dalam menghadapi cekaman kekeringan diantaranya melalui respon fisiologis, anatomis, morfologis dan biokimia. Respon fisiologis dan biokimia adalah menurunnya kandungan klorofil pada tanaman yang peka terhadap kekeringan (Nio Song dan Banyo, 2011; Nio Song dan Lenak, 2014).

Pada respon morfologis akan didapati perubahan warna pada tumbuhan menjadi kecokelatan (Banyo *et al.*, 2013). Respon anatomis salah satunya akan menyebabkan indeks stomata pada tumbuhan akan berubah (Lestari, 2006).

Cekaman air ini sangat mempengaruhi tekanan turgor yang menyebabkan luas daun lebih kecil dari ukuran normalnya. Taiz and Zeiger (2002) melaporkan respon tercepat terhadap munculnya cekaman ditandai dengan keadaan fisik dari tumbuhan daripada perubahan kimianya. Pengurangan volume sel menyebabkan tekanan hidrostatik menurun dan tekanan turgor juga menurun. Membran plasma menjadi menyempit dan lebih tertekan, daunnya lebih mengecil dari sebelumnya karena telah kehilangan tekanan yang punya pengaruh terhadap penurunan cekaman air.

Kondisi kekeringan terjadi karena ketersediaan air yang terbatas pada suatu lingkungan. Tanaman yang tumbuh pada lingkungan yang kekeringan akan melakukan adaptasi dengan menurunkan transpirasi. Pengurangan transpirasi dilakukan melalui pengecilan daun. Selain itu, tanaman juga melakukan perontokan daun, pembentukan bulu yang banyak pada jenis tanaman tertentu

(Salisbury and Ross, 1992), atau melakukan penggulungan pada bagian daun untuk memaparkan sedikit saja permukaan daun terhadap cahaya matahari (Campbell *et al.*, 2003).

Beberapa faktor yang terjadi pada tanaman yang mengalami cekaman air yaitu kurangnya ketersediaan air pada medium tanam dan transpirasi berlebihan atau kombinasi dari kedua faktor tersebut. Tanaman dapat mengalami cekaman air, walaupun pada lapangan didalam tanah cukup air. Hal ini dapat terjadi jika kecepatan absorpsi tidak dapat mengimbangi kehilangan air melalui proses transpirasi. Absorpsi air dapat mempengaruhi kecepatan kehilangan air, penyebaran dan kemampuan sistem perakan dan potensial air pada tanah. Kecepatan transpirasi menentukan luas struktur daun, stomata dan faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi perbedaan potensial air tanaman dan udara (Islami dan Utomo, 1995).

Kondisi kekeringan menyebabkan penutupan stomata terjadi. Peristiwa ini bertujuan meminimalisasi kehilangan air melalui proses transpirasi. Kondisi kekeringan menstimulasi asam absisat untuk merespon kondisi yang tidak menguntungkan ini dengan melakukan penutupan stomata oleh daun (Campbell *et al.*, 2003)

G. Karbohidrat

Karbohidrat merupakan senyawa-senyawa yang mengandung unsur ; C, H, dan O yang paling banyak terdapat dalam tumbuhan yaitu sekitar 75%.

Karbohidrat adalah karbon yang mengandung sejumlah besar gugus hidroksil.

Karbohidrat paling sederhana bisa berupa aldehid atau berupa keton.

Berdasarkan pengertian diatas berarti diketahui bahwa karbohidrat terdiri atas atom C, H dan O. Adapun rumus umum dari karbohidrat adalah $C_n (H_2O)_n$ (Wiratmaja dkk., 2011).

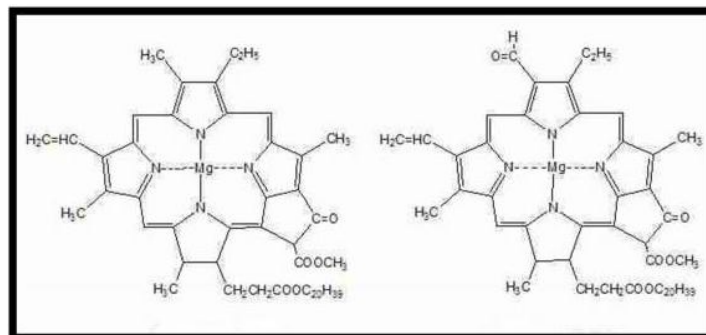
Perhitungan kandungan karbohidrat pada sampel merupakan analisis dasar pada tahapan biosains. Diantara semua metode kalorimetri untuk menentukan jenis karbohidrat, metode fenol-sulfur merupakan metode termudah dan akurat untuk pengukuran gula murni pada oligosakarida, proteoglikan, glikoprotein dan glikolipid (Masuko *et al.*, 2005).

Menurut Kerepesi and Galiba (2000), kandungan karbohidrat terlarut total sebagai indikator yang sesuai untuk cekaman kekeringan pada tanaman. Perubahan karbohidrat terlarut total berpengaruh secara langsung terhadap respon fisiologis seperti fotosintesis, translokasi dan respirasi. Efek dari kandungan terlarut total dapat diamati melalui bagian akar, daun dan batang.

H. Klorofil

Klorofil merupakan komponen kloroplas yang utama dan kandungan klorofil relatif berkorelasi positif dengan laju fotosintesis (Li *et al.*, 2006). Klorofil disintesis di daun dan berperan untuk menangkap cahaya matahari yang jumlahnya berbeda untuk tiap spesies. Sintesis klorofil dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti cahaya, gula atau karbohidrat, air, temperatur, faktor genetik, unsur-unsur hara seperti N, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, S dan O (Hendriyani dan Setiari, 2009).

Ada 2 macam klorofil pada tanaman yaitu klorofil a ($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$) berwarna hijau tua dan klorofil b ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$) berwarna hijau muda. Klorofil a dan b merupakan klorofil yang paling kuat menyerap cahaya di bagian merah dengan panjang gelombang 600- 700 nm dan paling sedikit menyerap cahaya hijau dengan panjang gelombang 500- 600 nm, sedangkan cahaya berwarna biru diserap oleh karotenoid (Nio Song and Banyo, 2011). Perbedaan rumus empiris klorofil a dan klorofil b terletak pada jumlah atom H dan atom O. Struktur klorofil a dan b disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur klorofil (A). Klorofil a, (B). Klorofil b (Nio Song and Banyo, 2011).

Kandungan klorofil daun dapat dipakai sebagai indikator yang tepat dalam mengevaluasi ketidakseimbangan metabolisme antara fotosintesis dan hasil produksi pada saat terjadi kekurangan air (Song and Banyo, 2011).

I. Stomata

Stomata merupakan celah dalam epidermis yang dibatasi oleh sel penutup. Sel penutup mengatur pelebaran dan penyempitan celah. Terdapat sel tetangga pada stomata yaitu sel yang mengelilingi stomata. Sel ini berperan dalam

perubahan osmotik yang menyebabkan gerakan sel penutup dalam mengatur lebar celah (Estiti, 1995).

Stomata pada umumnya terdapat pada permukaan bawah daun, tetapi pada beberapa species tumbuhan stomata berada di permukaan atas dan bawah daun. Tipe stomata dibedakan menjadi empat yaitu anomositik, anisositik, parasitik, dan diastik (Lakitan, 1993). Letak atau kedudukan stomata terhadap sel tetangga, arah membukanya stomata, bentuk stomata, jumlah sel epidermis dan stomata, jarak antar stomata dan panjang sel epidermis pada setiap jenis tumbuhan dapat berbeda-beda (Rompas dkk., 2011).

Singh and Usha (2003) melaporkan bahwa daun yang diaplikasikan asam salisilat mampu meningkatkan konduktansi stomata. Aplikasi eksogen asam salisilat dalam peningkatan ketahanan tanaman terhadap stress biotik dan stress abiotik melalui peningkatan regulasi stomata (Khan *et al.*, 2003).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan November 2016 sampai Januari 2017 di Laboratorium Botani (ruang penelitian *in vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

1. Alat-alat

Alat-alat yang digunakan untuk seleksi planlet sawi caisim secara *in vitro* adalah aluminium foil, *Autoklaf*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF) merk 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, tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan analitik, tisu, *waterbath*, dan kamera Canon Ixus 265 HS.

Alat-alat yang dipergunakan untuk analisis karbohidrat terlarut total dan klorofil adalah gunting, timbangan analitik, mikropipet, spektrofotometer (Shimudzu UV 800), pisau silet, kuvet, alat-alat gelas (pipet ukur, pipet tetes, tabung reaksi), mortar dan penumbuk, rak tabung reaksi, dan corong.

2. Bahan-bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah benih sawi caisim, agar-agar, alkohol 70%, akuades, *Benzine Amino Purine* (BAP), *Indole-3-Acetic Acid* (IAA), sukrosa, *Plant Preservative Mixture* (PPM), Kalium Hidroksida (KOH), Asam Chlorida (HCl), Asam Salisilat dan bahan kimia medium *Murashige & Skoog* (MS) padat.

Bahan untuk analisis karbohidrat terlarut total yaitu fenol, H₂SO₄, akuades, batang planlet sawi caisim dan kertas saring Whatman no 1. Bahan analisis klorofil yaitu daun planlet sawi caisim dan alkohol 95%

C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini disusun dengan pola Rancangan Acak Lengkap Faktorial 3x3 dengan dua faktor yaitu faktor A: Asam Salisilat dengan 3 taraf konsentrasi yaitu 0 ppm (a₁), 70 ppm (a₂), 80 ppm (a₃) dan faktor B: PEG 6000 b/v dengan 3 taraf konsentrasi yaitu 0% (b₁), 50% (b₂), dan 60% (b₃).

Masing-masing konsentrasi dilakukan 4 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 5 planlet sawi caisim dalam setiap botol kultur. Notasi faktor taraf kombinasi perlakuan disajikan pada Tabel 2 dan tata letak satuan percobaan disajikan pada Tabel 3 berikut.

Tabel 2. Notasi faktor taraf kombinasi perlakuan

Faktor	a			
	Taraf	a ₁	a ₂	a ₃
b	b ₁	a ₁ b ₁	a ₂ b ₁	a ₃ b ₁
	b ₂	a ₁ b ₂	a ₂ b ₂	a ₃ b ₂
	b ₃	a ₁ b ₃	a ₂ b ₃	a ₃ b ₃

Keterangan :

- a₁ b₁ : Asam Salisilat 0 ppm, PEG 6000 0%
 a₁ b₂ : Asam Salisilat 0 ppm, PEG 6000 50%
 a₁ b₃ : Asam Salisilat 0 ppm, PEG 6000 60%
 a₂ b₁ : Asam Salisilat 70 ppm, PEG 6000 0%
 a₂ b₂ : Asam Salisilat 70 ppm, PEG 6000 50%
 a₂ b₃ : Asam Salisilat 70 ppm, PEG 6000 60%
 a₃ b₁ : Asam Salisilat 80 ppm, PEG 6000 0 %
 a₃ b₂ : Asam Salisilat 80 ppm, PEG 6000 50 %
 a₃ b₃ : Asam Salisilat 80 ppm, PEG 6000 60 %

Tabel 3. Tata letak satuan percobaan

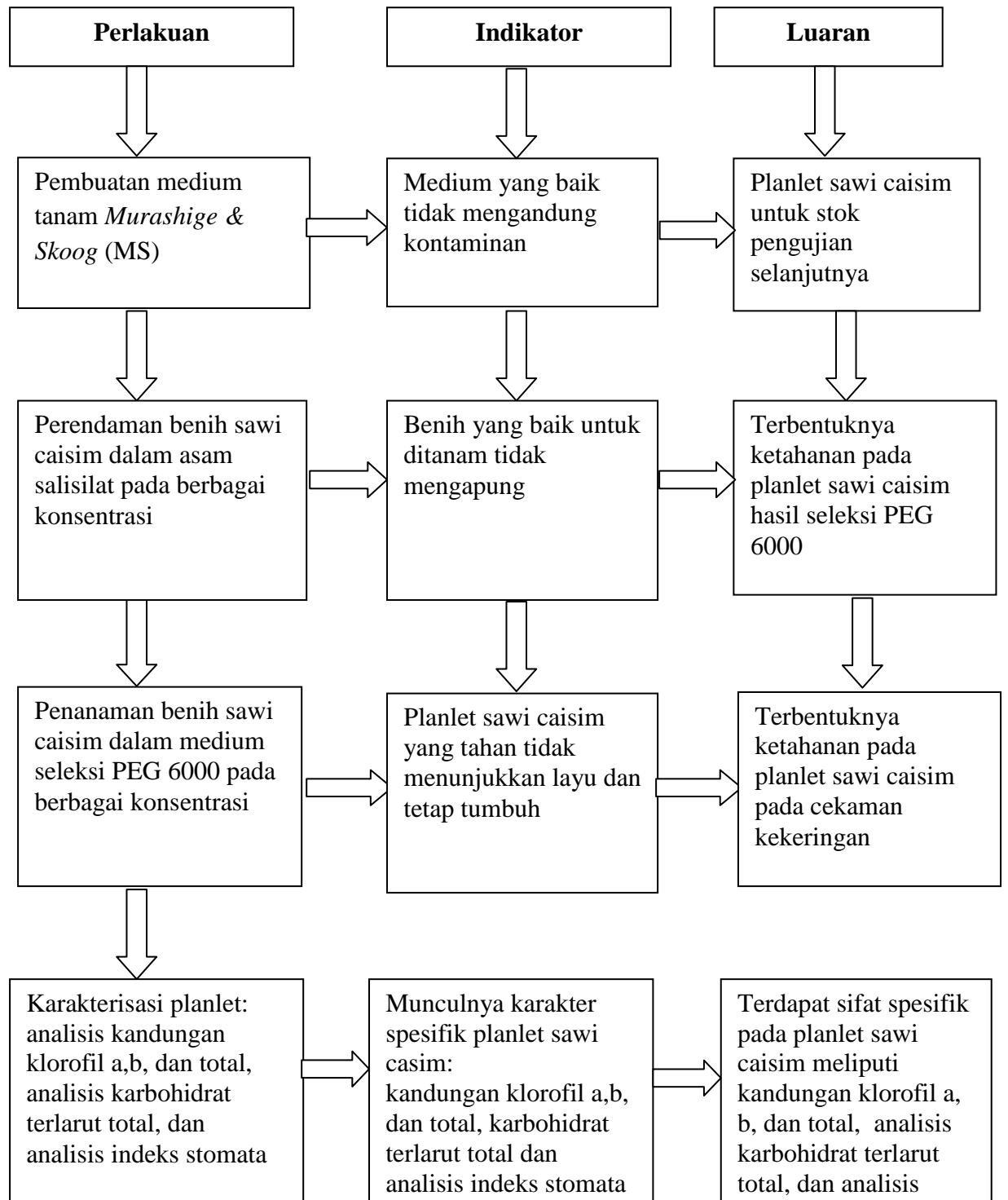
a ₂ b ₂ u ₁	a ₁ b ₁ u ₄	a ₂ b ₁ u ₂	a ₃ b ₂ u ₁
a ₁ b ₃ u ₁	a ₃ b ₁ u ₃	a ₃ b ₃ u ₁	a ₂ b ₁ u ₄
a ₂ b ₃ u ₃	a ₃ b ₃ u ₄	a ₁ b ₂ u ₄	a ₁ b ₃ u ₄
a ₃ b ₃ u ₃	a ₂ b ₃ u ₁	a ₃ b ₂ u ₂	a ₂ b ₃ u ₂
a ₃ b ₁ u ₁	a ₁ b ₁ u ₁	a ₁ b ₃ u ₂	a ₂ b ₁ u ₁
a ₂ b ₁ u ₃	a ₁ b ₂ u ₁	a ₃ b ₁ u ₄	a ₃ b ₂ u ₄
a ₁ b ₂ u ₃	a ₂ b ₂ u ₂	a ₃ b ₁ u ₂	a ₃ b ₃ u ₂
a ₁ b ₃ u ₃	a ₁ b ₂ u ₂	a ₁ b ₁ u ₃	a ₂ b ₂ u ₃
a ₂ b ₃ u ₄	a ₃ b ₂ u ₃	a ₂ b ₂ u ₄	a ₁ b ₁ u ₂

Keterangan :

- a₁-a₃ : Konsentrasi Asam Salisilat
 b₁-b₃ : Konsentrasi PEG

D. Bagan Alir Penelitian

Penelitian terdiri atas beberapa tahap, yaitu: 1) Pembuatan medium tanam *Murashige & Skoog* (MS), 2) Perendaman benih sawi caisim dalam asam salisilat pada berbagai konsentrasi, 3) Penanaman benih sawi caisim dalam medium seleksi PEG 6000 pada berbagai konsentrasi, 4) analisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet sawi caisim resisten cekaman kekeringan meliputi analisis karbohidrat total terlarut, analisis kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total, dan analisis indeks stomata. Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti tercantum pada Gambar 5.



Gambar 5. Bagan alir penelitian

E. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa langkah sebagai berikut.

1. Persiapan medium seleksi

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, 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 dengan menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5 psi, 121°C selama 15 menit.

Medium *Murashige & Skoog* (MS) padat selanjutnya ditambah PEG 6000 dengan konsentrasi 0%, 50%, dan 60% (b/v). 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 di dalam *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. Induksi benih sawi caisim dengan asam salisilat

Asam salisilat dilarutkan terlebih dahulu 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*. Kemudian asam salisilat diencerkan dengan 3 konsentrasi yaitu 0 ppm, 70 ppm, 80 ppm dan selanjutnya dilakukan perendaman benih sawi caisim selama 12 jam.

3. Penanaman benih sawi caisim dalam medium seleksi PEG 6000

Benih sawi caisim dimasukkan ke dalam botol kultur yang berisi medium MS dan PEG 6000.

Masing-masing konsentrasi dilakukan 4 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 5 biji sawi caisim dalam setiap botol kultur.

F. Pengamatan

1. Persentase Jumlah Planlet Yang Hidup

Rumus yang digunakan untuk menghitung jumlah planlet sawi yang hidup

(Nurchayani dkk., 2014)

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

2. Visualisasi Planlet

Meliputi warna tunas yang terbentuk dengan klasifikasi sebagai berikut:

hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna coklat, coklat.

3. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total

Analisis kandungan karbohidrat terlarut total dilakukan dengan metode

Fenol-sulfur (Dubois *et al.*, 1956). Batang planlet sawi caisim diambil

sebanyak 0,1 gram. Selanjutnya batang ditumbuk dengan mortar lalu diberi

10 ml akuades, disaring dengan kertas saring Whatman no. 1 lalu

dimasukkan ke dalam tabung reaksi.

Selanjutnya filtrat diambil sebanyak 1 ml lalu ditambahkan H₂SO₄ lalu

ditambahkan fenol sebanyak 2 ml. Selanjutnya filtrat dimasukkan

ke dalam kuvet dibaca pada panjang gelombang 490 nm.

Hasil absorbansi larutan standar dibuat persamaan regresi linier

sehingga diperoleh persamaan : $Y = ax + b$. Nilai absorbansi sampel

x 100% selanjutnya dimasukkan sebagai nilai Y sehingga didapatkan nilai x

(μ /mol).

4. Analisis Kandungan Klorofil

Bahan untuk analisis kandungan klorofil menggunakan daun planlet sawi caisim yang sudah diimbasi dengan PEG 6000, menggunakan metode Miazek (2002) dengan spektrofotometer (Shimadzu UV 800). Adapun langkah kerjanya sebagai berikut. Daun planlet sawi caisim yang seragam sebanyak 0,1 g dihilangkan ibu tulang daunnya, kemudian digerus dengan mortar (*pestle*) dan ditambahkan 10 ml alkohol 95%. Setelah itu larutan disaring dengan kertas *Whatmann* No. 1, dan dimasukkan ke dalam flakon serta ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar (alkohol 95%) di ambil sebanyak 1 ml, kemudian dimasukkan dalam kuvet. Setelah itu dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang (λ) 648 nm dan 664 nm, dengan ulangan tiap sampel sebanyak 3 kali. Kandungan klorofil dinyatakan dalam satuan miligram (mg) jaringan yang diekstraksi dan dihitung berdasarkan persamaan berikut :

$$\text{Chl a} = 13.36. \lambda_{664} - 5.19. \lambda_{648} (\text{V/W} \times 1000)$$

$$\text{Chl b} = 27.43. \lambda_{648} - 8.12. \lambda_{644} (\text{V/W} \times 1000)$$

$$\text{Chl total} = 5,24 \lambda_{664} + 22,24 \lambda_{648} (\text{V/W} \times 1000)$$

Keterangan :

$$\text{Chl a} = \text{Klorofil a}$$

$$\text{Chl b} = \text{Klorofil b}$$

$$\text{Chl total} = \text{Klorofil total}$$

$$\text{V} = \text{Volume Alkohol 95\%}$$

$$\text{W} = \text{Berat daun sawi caisim yang diekstrak}$$

5.. Analisis Indeks Stomata

Pembuatan preparat stomata dengan metode dari Ruzin (1999) sebagai berikut. Daun planlet *Brassica rapa* L. dibuat potongan-potongan segi empat dengan sisi ± 5 mm dan dimasukkan ke dalam tabung berisi larutan kloralhidrat dalam air (5:1). Tabung dipanasi dalam waterbath selama ± 10 -15 menit hingga potongan daun tersebut transparan. Potongan daun diletakkan dalam larutan khloralhidrat pada gelas benda. Permukaan yang ada stomatanya diletakkan di sebelah atas, kemudian ditutup dengan gelas penutup. Preparat diamati pada 5 bagian daerah yang berlainan. Tiap sel epidermis (E) ditandai dengan (x), tiap stoma (S) ditandai dengan (O).

Indeks stomata besarnya dihitung dengan rumus:

$$\text{Indeks stomata} = \frac{S}{E + S} \times 100 \% \quad (\text{Ruzin, 1999}).$$

Hasil akhir adalah rata-rata dari 5 buah pengamatan.

G. Analisis Data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet sawi caisim selama seleksi dengan PEG 6000 berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan didukung foto.

Data kuantitatif yang diperoleh dari setiap parameter dihomogenkan dengan uji Levene. Kemudian data dianalisis dengan menggunakan analisis ragam pada taraf nyata 5%. Jika interaksi kedua faktor nyata maka dilanjutkan dengan penentuan *simple effect* asam salisilat (faktor A) dan PEG 6000 (faktor B) dengan uji F pada taraf nyata 5%. Jika interaksi kedua faktor asam salisilat

(faktor A) dan PEG 6000 (faktor B) tidak nyata maka ditentukan *main effect* dengan Uji BNT pada taraf nyata 5%.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. Konsentrasi asam salisilat yang toleran untuk seleksi planlet sawi caisim dalam kondisi cekaman kekeringan adalah 80 ppm.
2. Konsentrasi toleran *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 yang mampu menyeleksi planlet sawi caisim yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro* adalah 50% (b/v) dan 60% (b/v).
3. Konsentrasi asam salisilat 80 ppm dan PEG 6000 60% meningkatkan kandungan karbohidrat terlarut total dan indeks stomata serta konsentrasi asam salisilat 80 ppm dan PEG 6000 50% meningkatkan kandungan klorofil a, b, dan total.

B. SARAN

Perlu adanya penelitian lanjutan dan pengujian analisis karakterisasi lainnya seperti analisis prolin, kandungan fenol, dan pola DNA atau profil protein.

DAFTAR PUSTAKA

- Afa, L.D., Bambang S., Ahmad J., Oteng H., dan Iswari S. 2012. Pendugaan Toleransi Padi Hibrida Terhadap Kekeringan dengan *Poly Ethylene Glycol**(PEG) 6000. *Jurnal Agrivigor* 11(2) :292-299 ISSN 1412-2286. Hlm. 292.
- Abbaspour, J. and Ehsanpour, A. 2016. The impact of salicylic acid on some physiological responses of *Artemisia aucheri* Boiss. under *in vitro* drought stress. *Journal agriculturae Slovenica*.
Doi:10.14720/aas.2016.107.2.03
- Ahanger, M. A., Tyagi, S. R., dan Ahmad, P. 2014. Drought Tolerance : Role of Organic Osmolytes, Growth Regulators, and Mineral Nutrients. *Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants under Changing Environment*. 1: 35-38
- Anonymous. 2016. *Poly Ethylene Glikol* .http://en.wikipedia.org/wiki/struktur-Poly_ethylene_glikol. Diakses 1 November 2016 pukul 16.30 WIB
- Aryulina, D, Muslim, C, Manaf, S dan Winarni, E.W. 2006. *Biologi 2*. Penerbit Erlangga. Jakarta
- Askari, E. and Ehsanzadeh, P. 2015. Drought stress mitigation by foliar application of salicylic acid and their interactive effects on physiological characteristics of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*. 37:2-14. Doi: 10.1007/s11738-014-1762-y
- Avancini, G., Abreu, I.N., Saldana, M.D.A., Mohamed, R.S., and Mazzafera, P. 2003. Induction of pilocarpine formation in jaborandi leaves by salicylic acid and methyljasmonate. *Phytochemistry*. 63:171-175.
- Badan Pusat Statistik Republik Indonesia. 2015. *Produksi Sayuran di Indonesia*. Jakarta.
- Banyo, Y.E., Siahaan, P dan Tangapo, A.M. 2013. Konsentrasi Klorofil Daun Padi pada Saat Kekurangan Air yang Diinduksi dengan Polietilen Glikol. *Jurnal Ilmiah Sains Vol. 13 No. 1*

- Bidabadi, S. S., Mahmood, M., Baninasah, B., and Ghobadi, C. 2012. Influence of Salicylic Acid on Morphological and Physiological Responses of Banana (*Musa acuminata* cv. Berangan, AAA) Shoot Tips to *In Vitro* water Stress Induced by Polyethylene Glycol. *Plant Omics Journal*. POJ 5(1): Hlm. 33-39.
- Bideski, A and Arvin, M.J. (2010). Effect of salicylic acid (SA) and drought stress on growth, bulb yield and allicin content of garlic (*Allium sativum*) in field. *Plant Ecophysiology*. 2:73-79.
- Cahyono, B. 2003. *Teknik dan Strategi Budidaya Sawi Hijau*. Yayasan Pustaka Nusatama. Yogyakarta.
- Campbell, N. A., Reece, J. B., dan Mitchell, L. G. 2003. *Biologi Edisi Kelima Jilid Dua*. Penerbit Erlangga Jakarta. Erlangga.
- Chazen, O and Neumann, P.M. 1994. Hydraulic signals from the roots and rapid cell wall hardening in growing maize (*Zea mays* L.) leaves are primary responses to polyethylene glycol-induced water deficits. *Plant Physiol*. 104:1385–1392.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of flowering Plants*. Colombia University Press. New York.
- Djazuli, M. 2010. Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Pertumbuhan dan Beberapa Karakter Morfo- Fisiologis Tanaman Nilam. *Bul.Litro* Vol 21 No. 1. Hlm. 8-17.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. 1981. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Bhatara Karya Aksara.
- Dubois, M., Gille, KA. Hamilton, JK, Rebers, P.A and Smith, F. 1956. Colometri method for Determination of Sugars and Related Substance. *Anal. Biochem*. 28(1956): Hlm. 143-145.
- Erasalan, F., Inal, A., Gunes, A., and Alpaslan, M.. 2007. Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. *Sci. Hortic*. 113: 120–128.
- Estiti, B. H. 1995. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. Penerbit ITB. Bandung.
- Fayez, K.A. and Bazaid, S.A. 2013. Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.13: 45–55
- Fessenden, R. J. And Fessenden, J. S. 1986. *Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid Kedua*. Erlangga. Jakarta. Alih Bahasa Pudjaatmaka, A., H. Terjemahan dari : *Organic Chemistry*, Third Edition.

- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Bagci, E.G., and Cicek, N., 2007. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. *J. Plant Physiol.* 164: 728–736.
- Hamada, A. M., and A. M. A. Al-Hakimi. 2001. Salicylic acid versus salinitydrought- induced stress on wheat seedlings. *RostlinaVyroba* 47: 444–450.
- Hamim. 2004. Underlying Drought Stress Effect on Plant: Inhibition of Photosynthesis. *J Hayati* 11(4):164-169.
- Harni, S., Supramana M, Surya S, Giyanto dan Supriyadi. 2012. Mekanisme Bakteri Endofit Mengendalikan Nematoda Pada Tanaman Nilam. *Bul Lutro* 23 (1): 102-114.
- Haryanto, E.T., Suhartini, T dan Rahayu, E. 1995. *Sawi dan Selada*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Haryanto, E., Suhartini, T., Rahayu, E., dan Sunarjono,. 2003. *Sawi dan Selada. Edisi baru*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hayat, S., Hasan, S.E., Fariduddin, Q., and Ahmad, A. 2008. Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *Journal of Plant Interactions*, 3:4, 297-304
- He, Y.L., Liu, Y.L., Chen, Q., and Bian, A.H., 2002. Thermotolerance related to antioxidation induced by salicylic acid and heat hardening in tall fescue seedlings. *J. Plant Physiol. Mol. Biol.* 28: 89–95.
- He, Q., Zhao, S., Ma, Q., Zhang, Y., Huang, L., Li G., and Hao, L. 2014. Endogenous salicylic acid levels and signaling positively regulate Arabidopsis response to polyethylene glycol-simulated drought stress. *Journal of Plant Growth Regulation*. 33: 871-880. Doi: 10.1007/s00344-014-9438-9
- Hendaryono, D.P.S. dan Wijayani, A. 1994. *Kultur Jaringan (Pengenalalan dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman Secara Vegetatif Media)*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Hendriyani, I.S dan Setiari, N. 2009. Kandungan Klorofil Dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vignasinensis*) Pada Tingkat Penyediaan Air Yang Berbeda. *J. Sains & Mat.* Vol. 17 No. 3, Hal 150.
- Herdiawan, I. 2012. Pertumbuhan Tanaman Pakan Ternak Legum Pohon *Indigofera zollingeriana* pada Berbagai Taraf Perlakuan Cekaman Kekeringan. *JITV* 18(4): 258-264.

- Isharnani, C. 2015. Karakterisasi planlet anggrek tanah (*Spathoglottis plicata* blume) hasil seleksi dengan asam fusarat secara *in vitro*. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Islami, T. dan Utomo, W. H. 1995. *Hubungan Tanah, Air dan Tanaman*. IKIP Semarang Press: Semarang.
- Jones, M.M. and Turner, N.C. 1980. Osmotic adjustment in expanding and fully expanded leaves of sunflower in response to drought deficit. *Proc. Indian. Nat., Sci., Acad.* 3 (57) : 288-304.
- Kerepesi, I dan Galliba, G. 2000. Osmotic and Salt Stress-Induced Alteration in Soluble Carbohydrate Content in Wheat Seedlings. *Crop science* 40 (2000): Hlm. 482-287
- 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* 8(3): 1051- 1060.
- Khan, W, dan Prithiviraj, B, Smith, D. 2003. Photosynthetic response of Corn and Soybean to foliar application of salicylates. *Journal Plant Physiology*. 160: 485-492.
- Khodary, S.E.A. 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt-stressed maize plants. *Int. J. Agric. Biol.* 6: 5-8.
- Kholova, J, Hash, C.T., Kakker, Kocova, A.M and Vadez, V. 2010. Constitutive water-conserving mechanisms are correlated with the terminal drought tolerance of Pearl Millet [*Pennisetum glaucoma* (L.) R. Br.]. *Journal of Experimental Botany* 61(2): 369-377.
- Lakitan, B. 1993. *Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lestari, E.G. 2006. Hubungan antara Kerapatan Stomata dengan Ketahanan Kekeringan pada Somaklon Padi Gajahmungkur, Towuti, dan IR 64. *BIODIVERSITAS*. Volume 7. Nomor 1 Halaman: 44-48.
- Li, R.P.G., Baum, M. Grando, S and Ceccarelli, S. 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.
- Lindawati. 2014. Kajian Planlet Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill) Hasil Seleksi dengan Asam Salisilat Secara *in vitro*. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Margiyanto, E. 2007. *Budidaya Tanaman Sawi*. Penebar Swadaya: Jakarta.

- 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.
- Miazek, Mgr inż Krystian. 2002. *Chlorophyll extraction from harvested plant material*. Supervisor: Prof. Dr hab. Inż. Stanisław Ledakowicz.
- Mulyani, S. 2006. *Anatomi Tumbuhan*. Penerbit Kanisius: Yogyakarta. Hlm 140–150.
- Nazar, R., Umar, S., Khan, N.A., and Sareer, O. 2015. Salicylic acid supplementation improves photosynthesis and growth in mustard through changes in proline accumulation and ethylene formation under drought stress. *South African Journal of Botany*. 98: 84-94
Doi:10.1016/j.sajb.2015.02.005.
- Nio Song, A dan Banyo, Y. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*. Vol 11 No 2.
- Nio Song A dan Lenak, A.A. 2014. Penggulungan Daun Pada Tanaman Monokotil Saat Kekurangan Air. *Jurnal Bioslogos, Agustus 2014, Vol. 4 No. 2*
- Nurchayani, E., Issirep S., Bambang H., dan Suharyanto. 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. 2013. Karakterisasi Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews.) Hasil Seleksi *In Vitro* dengan Asam Fusarat Terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. *Disertasi*. (Tidak dipublikasikan).
- Nurchayani, E., Hadisutrisno, B., 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. Hlm. 272-279.
- Pastenes, C., Pimentel, P., and Lillo, J. 2005. Leaf movements and photoinhibition in relation to water stress in field-grown beans, *J. Exp. Bot.* 56: 425–433.
- Patakas, A. and Noitsakis, B. 2001. Leaf age effects on solute accumulation in water-stressed grapevines. *Journal of Plant Physiology*. 158: 63-69.
Doi: 10.1078/0176-1617-00003.

- Popova, L.P., Maslenkova, L.T., Ivanova, A. and Stoinova, Z. (2012). Role of salicylic acid in alleviating heavy metal stress. *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change*. pp 447-466.
- Purnomo, T.W.S., Kristian, R., dan Amitra, P.S. 2007. Asam Salisilat dari Phenol. Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Banten.
- Purwanto dan Agustono, T. 2010. Kajian Fisiologi Tanaman Kedelai pada Cekaman Kekeringan dan Berbagai Kepadatan Gulma Teki. *Agrobisnis* 12 (1): Hlm. 24-28.
- Rahayu, E.S, Edi, G., Satriyas, I., dan Sudarsono. 2005. *Poly Ethylene Glycol* (PEG)dalam Media *In Vitro* Menyebabkan Kondisi Cekaman yang Menghambat Tunas Kacang Tanah (*Arachis hypogea* L.). *Berk Penel Hayati* : 11 (39-48).
- Rebbeca, L., Larson, B., and Jacobsen, B.J. 2007. Biocontrol elicited systemic resistance in sugarbeet is salicylic acid independent and NPR1 dependent. *J. Sugarbeet Res.* Vol. 44 Nos. 1&2.
- Rompas, Y , Rampe, H.L., Rumondor, M.J. 2011. Struktur Sel Epidermis dan Stomata Daun Beberapa Tumbuhan Suku Orchidaceae. *Jurnal Bioslogos*, Vol. 1 No. 1.
- Ruzin, S.E. 1999. *Plant Microtechnique and Microscopy*. Oxford University Press. New York.
- Salisbury, F.B dan Ross, W.C. 1995. *Fisiologi tumbuhan*. Jilid 1. ITB, Bandung.
- Savitri, E.S. 2010. Pengujian *In Vitro* Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine max* L. Merr) Toleran Kekeringan Menggunakan *Polyethylene Glycol* (PEG) 6000 pada Media Padat dan Cair. *El-Hayah* Vol. 1 No.2.
- Serap cag, Gul cehavir, O.Z., Mine Sarsag and Wihal Goren Saglam. 2009. Effect Of Salicylic Acid On Pigment, Protein Content, and Peroxidase Activity In Exicesed Sun Flower Cotyledons. *Pak. J. Bot* 41 (5): 2297-2303 Istanbul University, Istanbul Turkey.
- Setia , J. 2016. Kajian efek asam salisilat terhadap kandungan karbohidrat terlarut total dan klorofil planlet pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca* L. var.*bluggoe*) dalam kondisi cekaman kekeringan secara *in vitro*. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Shakirova, F.M, Sakhabutdinova, A.R, Bezrukova, M.V, Fathudinova, R.A, and Fathutdinova, D.R. 2003. Changes in hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Sci.* 164:317-322.

- Shen, C., Hu, Y., Du, X., Li, T., Tang, H., and Wu, J. 2014. Salicylic acid induces physiological and biochemical changes in *Torreya grandis* cv. Merrillii seedlings under drought stress. *Trees*, 28: 961-970. Doi: 10.1007/s00468-014-1009-y
- Singh, B and Usha, K. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regulation*. 39:137-141. Doi: 10.1023/A:1022556103536.
- Suryowinoto, M. 1996. *Pemuliaan Tanaman secara In Vitro*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Susila, A. 2006. Panduan Budidaya Tanaman Sayuran. Bagian Produksi Tanaman Departemen Agronomi dan Hortikultura. IPB
- Susilowati, E. 2015. Seleksi Planlet Angrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) B.) Dengan Asam salisilat Secara *In Vitro* Terhadap Aktivitas Enzim Peroksidase dan Kandungan Klorofil. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Suyitno, A.I, Suryani, D dan Ratnawati. 2003. Tanggapan Stomata dan Laju Transpirasi Daun *vaccinium varingiaefolium* (bl.) Miq. Menurut Tingkat Perkembangan Daun dan Jarak terhadap Sumber Emisi Gas Belerang Kawah Sikidang Dataran Tinggi Dieng. *Publikasi Seminar Hasil Penelitian MIPA, FMIPA UNY*.
- Taiz, L and Zeiger, E. 2002. *Plant Physiology*. California. The Benjamin/cumming Publishing Company.
- Tasgin, E., Atici, O and Nalbantoghu, B. 2003. Effect of salicylic acid and cold on freezing tolerance in wheat leaves. *Plant Growth Regul*. 41:231-236.
- Tawfik, K.M. 2008. Effect of Water Stress in Addition to Potassium Application on Mungbean. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(1): 42-52. ISSN 1991-8178.
- Verslues, P.E, Ober, E.S, and Sharp, R.E, 1998. Root growth and oxygen relation at low water potentials. Impact of oxygen availability in polyethylene glycole solution. *Plant Physiol*. 116:1403–1412.
- Vicente, M.R.S and Plasencia, J. 2011. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*. 62: 3321-3338. Doi: 10.1093/jxb/err031.
- Wahyudi, T., Panggabean, T.R., dan Pujiyanto. 2008. *Kakau Manajemen Agribisnis dari Hulu hingga Hilir*. Penebar Swadaya. Hlm. 1-151.
- Welsh, J.R. 1991. *Dasar-Dasar Genetika dan Pemuliaan Tanaman*. Penerbit Erlangga. Jakarta. Alih bahasa Moge JP. Hlm. 204-207.

- Wicaksono. 2008. *Morfologi Tanaman Sayuran*. Yogyakarta. Gajah Mada University. Press, .421 hal.
- Wiratmaja., I Gede., Kusuma, I Gusti, B.W., Winaya, dan I Nyoman, S. 2011. Pembuatan Etanol Generasi Kedua dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut *Eucheuma cottonii* Sebagai Bahan Baku. *Jurnal ilmiah teknik mesin*. Vol. 5 (1): Hlm. 75-84.
- Wetter, L.R and Constabel, F. 1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. Bandung. Penerbit ITB Bandung.
- Yulia, A.E., Murniati dan Fatimah. 2011. Aplikasi pupuk organik pada tanaman caisim untuk dua kali penanaman. *Jurnal Sagu*, 10(1): 14-19.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta. Agromedia Pustaka
- Yusuf, M., Hasan, S. A., Ali, B., Hayat, S., Fariduddin, Q and Ahmad, A. 2008. Effect of salicylic acid on salinity induced changes in *Brassica juncea*. *J. Integr. Plant Biol.* 50: 1-4.
- Zamaninejad, M., Khorasani, S.K., Moeini, M.J., and Heidarian, A.R (2013). Effect of salicylic acid on morphological characteristics, yield and yield components of corn (*Zea mays* L.) under drought condition. *European J. Exp. Biology*. 3(2):153-161.
- 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* Vol. 1 (1): Hlm. 1-8.