

**KARAKTERISASI PLANLET KEDELAI *Glycine max* (L.) Merr.  
KULTIVAR PANGRANGO SETELAH DI INDUKSI LARUTAN ATONIK  
DALAM KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN SECARA *IN VITRO***

**(Skripsi)**

**Oleh**

**IRA CAHYANI PRASTIKA SARI**



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

## ABSTRAK

### KARAKTERISASI PLANLET KEDELAI *Glycine max* (L.) Merr. KULTIVAR PANGRANGO SETELAH DI INDUKSI LARUTAN ATONIK DALAM KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN SECARA *IN VITRO*

Oleh

**Ira Cahyani Prastika Sari**

Kedelai merupakan salah satu komoditas tanaman pangan terbesar di Indonesia sehingga permintaan akan kedelai terus meningkat, namun terjadi penurunan produksi kedelai di dalam negeri yang disebabkan yaitu adanya cekaman kekeringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi toleran larutan atonik dan PEG 6000 yang resisten terhadap cekaman kekeringan serta untuk mengetahui interaksi kombinasi larutan atonik dan PEG 6000 terhadap pertumbuhan planlet kedelai kultivar Pangrango. Penelitian dilaksanakan dari bulan November 2016 sampai Januari 2017 secara *In Vitro* di Laboratorium Botani (ruang penelitian *In Vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan dalam percobaan rancangan acak lengkap faktorial 3x3. Faktor A adalah Larutan atonik dengan 3 taraf konsentrasi yaitu 0 ml/l, 1 ml/l, 2 ml/l dan faktor B adalah PEG (b/v) dengan 3 taraf konsentrasi yaitu 0%, 70%, dan 80% (b/v). Parameter yang diamati adalah kandungan klorofil a, b, dan total, tinggi planlet, panjang akar, dan berat segar. Homogenitas ragam dilakukan dengan uji Levene kemudian dilanjutkan dengan analisis ragam pada taraf nyata 5%. Jika kedua faktor berinteraksi nyata maka dilanjutkan dengan penentuan *simple effect* atonik (faktor A) dan PEG (faktor B) dengan uji F pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 1) konsentrasi larutan atonik yang toleran untuk seleksi planlet kedelai terhadap cekaman kekeringan secara *In Vitro* adalah 2 ml/l, 2) konsentrasi toleran PEG 6000 yang mampu menyeleksi planlet kedelai yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *In Vitro* adalah 70% dan 80% (b/v), 3) terdapat interaksi antara atonik dan PEG 6000 terhadap kandungan klorofil, berat segar, tinggi planlet dan panjang akar.

**Kata kunci :** Kedelai varietas Pangrango, larutan atonik, PEG 6000, *In vitro*.

**KARAKTERISASI PLANLET KEDELAI *Glycine max* (L.) Merr.  
KULTIVAR PANGRANGO SETELAH DI INDUKSI LARUTAN  
ATONIK DALAM KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN SECARA  
*IN VITRO***

Oleh

**Ira Cahyani Prastika Sari**

Skripsi

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

Pada

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



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2017**

**Judul Skripsi** : **KARAKTERISASI PLANLET KEDELAI *Glycine max* (L.) Merr. KULTIVAR PANGRANGO SETELAH DI INDUKSI LARUTAN ATONIK DALAM KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN SECARA *IN VITRO***

**Nama Mahasiswa** : **Ira Cahyani Prastika Sari**

**No. Pokok Mahasiswa** : 1317021041

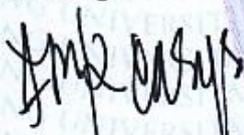
**Jurusan** : Biologi

**Fakultas** : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**MENYETUJUI**

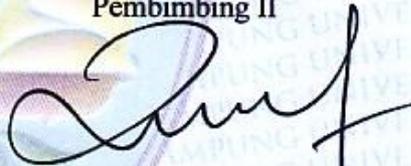
**1. Komisi Pembimbing**

**Pembimbing I**



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

**Pembimbing II**



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

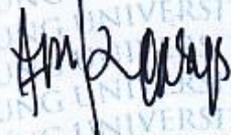
**2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA**

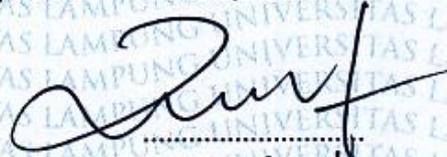


**Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc.**  
NIP 19660305 199103 2 001

**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

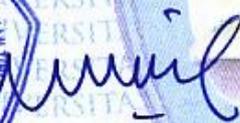
Ketua : **Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.** 

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 : 23 Mei 2017

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Purwosari, Metro Raya, Provinsi Lampung pada tanggal 24 Oktober 1994, sebagai anak pertama dari tiga saudara, dari pasangan Bapak Mukhtar dan Ibu Suryani.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di Taman Kanak-Kanak Aisyah Bustanul Akmal

Kabupaten Lampung Tengah pada tahun 2000. Pada tahun 2001 penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Dasar Negeri 1 Poncowati Terbanggi Besar Lampung Tengah. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah pertama di SMP Negeri 3 Bandar Jaya pada tahun 2007, dan melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Kotagajah Lampung Tengah pada tahun 2010.

Pada tahun 2013, penulis tercatat sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Unila, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Kultur Jaringan Tumbuhan, Sains Dasar, dan Palinologi di Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Lampung. Penulis

juga aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai Anggota Dana dan Usaha 2014-2015.

Penulis melaksanakan Kerja Praktik di Taman Sains Pertanian Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Natar Lampung Selatan, Provinsi Lampung pada bulan Juni-Agustus 2016 dengan judul **“Pengaruh Konsentrasi Air Kelapa Terhadap Perkecambahan Dan Pertumbuhan Kedelai *Glycine max* (L.) Merr. Varietas Gepak Kuning Di Taman Sains Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Lampung”**. Pada bulan Januari-Februari 2017 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Mataram Udik, Kecamatan Bandar Mataram, Kabupaten Lampung Tengah. Penulis melaksanakan penelitian pada bulan November 2016 - Januari 2017 di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, 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, :

Bapak (Mukhtar) yang selalu memberikan semangat dukungan yang tiada henti dan Ibu (Suryani) yang telah memberikan cinta dan kasih sayangnya serta doa yang tak putus-putusnya, selalu memberikan semangat dan mengajarkan untuk menjadi pribadi yang kuat

Kedua adik kesayanganku yang terus memberi dukungan

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

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

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

Almamaterku tercinta.



## MOTO

**“Barang siapa keluar untuk mencari ilmu maka dia berada di jalan Allah ”  
(HR.Turmudzi)**

**Barang siapa menempuh suatu jalan untuk mencari ilmu,  
maka Allah memudahkannya mendapat jalan ke syurga  
( H.R Muslim)**

**“Orang yang menuntut ilmu berarti menuntut rahmat ; orang  
yang menuntut ilmu berarti menjalankan rukun Islam dan Pahala  
yang diberikan kepada sama dengan para Nabi”.  
( HR. Dailani dari Anas r.a )**

**“ Waktu itu bagaikan pedang, jika kamu tidak memanfaatkannya  
menggunakan untuk memotong, ia akan memotongmu  
(menggilasmu)”  
(H.R. Muslim)**

## SANWACANA

Puji syukur atas rahmat Allah SWT dengan segala hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“Karakterisasi Planlet Kedelai *Glycine max* (L.) Merr. Kultivar Pangrango Setelah Di Induksi Larutan Atonik dalam Kondisi Cekaman Kekeringan Secara *In Vitro*”**.

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

Pada kesempatan ini, penulis haturkan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada Ibu **Dr. Endang Nurcahyani, M. Si.** yang telah berkenan menjadi Pembimbing I dan Bapak **Ir. Zulkifli, M.Sc.** yang telah berkenan menjadi Pembimbing II. Terima kasih penulis haturkan atas kesabaran, memberikan arahan, saran, serta motivasi untuk membimbing penulis dalam penelitian hingga terselesainya skripsi ini.

Ucapan terimakasih 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 Wawan Abdullah Setiawan, 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, dan Rektor Universitas Lampung.
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 Mukhtar terimakasih selama masa hidup beliau telah membimbing, mengajari dan memberikan dukungan. dengan selalu mengingat beliau menjadi acuan semangat penulis untuk bisa menyelesaikan karya ini. Ibu Suryani yang telah memberikan seluruh tenaga, pikiran, semangat dukungan serta doa yang tiada hentinya, dan nasehat-nasehat sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
7. Kedua adik kesayanganku Farhan Fuadi dan Salma Anggraini yang selalu memberikan semangat, dukungan, dan doanya.

8. Sahabat seperjuangan penelitian Bioteknologi Tumbuhan/Kultur Jaringan Tumbuhan Mila, Sita, Ellia, Adhe, Ferza, Ariska, dan Siska terimakasih untuk semua kerjasama, kebersamaan, semangat, saran dan kritik serta doanya selama menjalani penelitian.
9. Kakak-kakak penelitian Bioteknologi Tumbuhan/Kultur Jaringan Tumbuhan Mba Aul, Kak Abdi, Mba Lu'lu, Mba Asri, Mba Imamah, dan Mba Jevica yang telah memberikan pelajaran semasa penelitian.
10. Sahabat terbaik "Wanita Soleha" Bella Noor, Bella Rizcikal, Firda Nur, Nadia, Niswaton terimakasih atas kebersamaan selama ini dari awal masuk perkuliahan hingga akhir selalu ada untuk penulis.
11. Sahabat-sahabatku Ricky Rizki Kurniawan, Liony Nike Ovindha, Afriska Dwi Artina, dan Fendi Nur Fauzi yang selalu memberikan semangat dan mendengarkan keluh kesah selama menjalankan penelitian ini.
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 2011, 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 Lampung Tengah Bandar, Kecamatan Mataram Mataram, Desa Udik dan kelompok KKN Julpa Aulia, Intan, Dewi, Elisa, Teta, Sulis, Rio, Dedi, Untung, Dzulfikar, Aldi, dan Reza terimakasih untuk pengalaman, pembelajaran serta kebersamaan.

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, Mei 2017

Penulis,

*Ira Cahyani Prastika Sari*

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang dan Masalah

Kedelai merupakan salah satu komoditas tanaman pangan terbesar di Indonesia setelah padi dan jagung (Suprpto, 1992). Kedelai adalah bahan pangan penting, sumber protein nabati sehingga kebutuhan kedelai dari tahun ke tahun selalu meningkat (Adisarwanto dan Wudianto,1999).

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

Menurut Haryati (2003) kekurangan air dapat mengganggu aktivitas fisiologis maupun morfologis, sehingga mengakibatkan terhentinya pertumbuhan. Defisiensi air yang terus menerus akan menyebabkan perubahan yang *irreversible* (tidak dapat balik) dan pada gilirannya tanaman akan mati

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

Pendekatan seleksi *In Vitro* mampu menghasilkan ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan diantaranya pada tanaman kacang tanah (Yudiwanti *et al.*, 2010), jagung (Badami dan Amzeri, 2010) dan nilam (Djazuli, 2010),

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

Upaya peningkatan produksi kedelai dapat dilakukan dengan pemberian Zat Perangsang Tumbuh (ZPT) (Septiatin, 2008). Menurut Sumiati *et al.*, (1989) atonik merupakan salah satu zat pengatur tumbuh untuk tanaman yang berfungsi sebagai zat perangsang tumbuhnya akar, mengaktifkan penyerapan unsur hara, meningkatkan keluarnya kuncup dan buah serta dapat memperbaiki kualitas panen. Penggunaan kultivar yang baik diharapkan dapat mengurangi biaya produksi serta meningkatkan produktivitas kedelai (Giono *et al.*, 2014).

Berdasarkan penelitian Irma (2013) konsentrasi ZPT terbaik pada pertumbuhan tanaman jagung adalah 2 ml/l air. Suparwoto *et al.* (2006) menyatakan bahwa larutan atonik dengan takaran 1 ml/l berpengaruh nyata terhadap kecepatan perkecambahan biji duku. Penggunaan ZPT Atonik dengan takaran 1 ml/l dapat memacu auksin endogen untuk pembesaran sel tanaman (Beyer, 1973). Waktu perendaman 60 menit pada benih semangka dengan konsentrasi atonik 1 ml/l menghasilkan bobot kering akar lebih tinggi (Sunarlim, 2012).

Sejauh ini belum ada penelitian tentang karakterisasi planlet kedelai [*Glycine max* (L.) Merr.] kultivar Pangrango setelah di induksi larutan atonik dalam kondisi cekaman kekeringan secara *In Vitro*, oleh karena itu penelitian ini perlu dilakukan.

## **B. Tujuan penelitian**

Berdasarkan latar belakang di atas maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui konsentrasi larutan atonik yang toleran terhadap cekaman kekeringan untuk seleksi planlet kedelai kultivar Pangrango secara *In Vitro*.
2. Mengetahui konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk seleksi planlet kedelai kultivar Pangrango yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *In Vitro*.
3. Mengetahui interaksi antara larutan atonik dengan PEG 6000 terhadap kandungan klorofil dan pertumbuhan planlet kedelai.

### **C. Manfaat penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai penggunaan larutan atonik dan PEG 6000 yang resisten terhadap cekaman kekeringan terhadap planlet kedelai kultivar Pangrango dengan simulasi cekaman kekeringan menggunakan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) secara *In Vitro*. Planlet yang toleran terhadap cekaman kekeringan diharapkan dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang pemuliaan tanaman, dan ilmu terapan yang terkait.

### **D. Kerangka Pemikiran**

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

Cekaman kekeringan merupakan salah satu faktor penyebab menurunnya produksi kedelai di Indonesia. Hal itu dapat berpengaruh negatif karena akan menyebabkan terjadinya penurunan hasil kedelai yang akan dipanen. Seleksi *In Vitro* planlet dengan menggunakan larutan atonik dan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk melakukan seleksi terhadap tanaman kedelai sehingga toleran terhadap cekaman kekeringan.

Planlet yang dapat tumbuh dalam medium yang mengandung larutan atonik dan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) dengan berbagai konsentrasi diduga dapat mendorong pertumbuhan akar dan mampu bertahan dalam kondisi alaminya di lingkungan yaitu kondisi kekeringan. Perkecambahan kedelai kultivar Pangrango yang ditanam pada medium *In Vitro* dengan penambahan larutan atonik dan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) dapat digunakan sebagai indikator kemampuan untuk mensimulasikan cekaman kekeringan dalam medium *In Vitro*.

#### **E. Hipotesis**

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Terdapat kisaran konsentrasi larutan atonik yang toleran terhadap cekaman kekeringan untuk seleksi planlet kedelai secara *In Vitro*.
2. Terdapat kisaran konsentrasi PEG 6000 yang toleran terhadap cekaman kekeringan untuk seleksi planlet kedelai secara *In Vitro*.
3. Terdapat interaksi antara larutan atonik dengan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 terhadap kandungan klorofil a, b, dan total pertumbuhan planlet kedelai.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tanaman Kedelai

*Glycine max* merupakan tanaman yang dihasilkan dari persilangan *G. ussuriensis* dengan *G. tomentosa*, keduanya ditemukan tumbuh liar di wilayah timur Asia yaitu di Cina. Kedelai merupakan tanaman yang telah dibudidayakan sejak 2800 SM. Kedelai mulai dikenal di Indonesia sejak abad ke-16. Awal mula penyebaran dan pembudidayaan kedelai yaitu di Pulau Jawa, kemudian berkembang ke Bali, dan Nusa Tenggara (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998).

Klasifikasi tanaman kedelai menurut Cronquist (1981) & APG II (2003) sebagai berikut.

Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Bangsa : Fabales  
Suku : Fabaceae  
Marga : *Glycine*  
Jenis : *Glycine max* (L.) Merrill

Kedelai berhabitus semak, dengan tinggi batang antara 30-100 cm. Setiap batang dapat membentuk 3-6 cabang. Bentuk daun kedelai ada dua macam, yaitu bulat dan lancip (Adisarwanto, 2005).

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

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

Bunga kedelai termasuk bunga sempurna, artinya dalam setiap bunga terdapat alat kelamin jantan dan alat kelamin betina. Penyerbukan terjadi pada saat mahkota bunga masih menutup, sehingga kemungkinan terjadinya kawin silang

secara alami sangat kecil. Bunga terletak pada ruas-ruas batang, berwarna ungu atau putih. Tidak semua bunga dapat menjadi polong walaupun telah terjadi penyerbukan secara sempurna (Suprpto, 2001).

Polong kedelai pertama terbentuk sekitar 7-10 hari setelah munculnya bunga pertama. Panjang polong muda sekitar 1 cm, jumlah polong yang terbentuk pada setiap ketiak tangkai daun sangat beragam, antara 1-10 buah dalam setiap kelompok. Pada setiap tanaman, jumlah polong dapat mencapai lebih dari 50, bahkan ratusan. Kecepatan pembentukan polong dan pembesaran biji akan semakin cepat setelah proses pembentukan bunga berhenti. Ukuran dan bentuk polong menjadi maksimal pada saat awal periode pemasakan biji. Hal ini kemungkinan diikuti oleh perubahan warna polong, dari hijau menjadi kuning kecoklatan pada saat masak (Adisarwanto, 2014).

## **B. Komposisi Kimia Biji Kedelai**

Kedelai (*Glycine max* L. Mer) merupakan salah satu komoditi pangan dari famili leguminosae yang dibutuhkan dalam pelengkap gizi makanan. Kedelai memiliki kandungan gizi tinggi yang berperan untuk membentuk sel-sel tubuh dan menjaga kondisi sel-sel tersebut. Kedelai mengandung protein 75-80% dan lemak mencapai 16-20 serta beberapa asam-asam kasein (Suhardi, 2002).

Kedelai termasuk salah satu sumber protein yang harganya relatif murah jika dibandingkan dengan sumber protein hewani. Dari segi gizi kedelai utuh mengandung protein 35 – 38 % bahkan dalam kultivar unggul kandungan protein dapat mencapai 40 – 44 % (Koswara, 1995)

Kedelai (*Glycine max* L. (Merr.)) adalah tanaman semusim yang diusahakan pada musim kemarau, karena tidak memerlukan air dalam jumlah besar.

Kedelai merupakan sumber protein, dan lemak, serta sebagai sumber vitamin A, E, K, dan beberapa jenis vitamin B dan mineral K, Fe, Zn, dan P. Kadar protein kacang-kacangan berkisar antara 20-25%, sedangkan pada kedelai mencapai 40%. Kadar protein dalam produk kedelai bervariasi misalnya, tepung kedelai 50%, konsentrat protein kedelai 70% dan isolat protein kedelai 90% (Winarsi, 2010) .

Menurut Astuti *et al.*, (2000) komposisi gizi kedelai bervariasi tergantung kultivar yang dikembangkan dan juga warna kulit maupun kotiledonnya.

Kandungan protein dalam kedelai bervariasi antara 31-48% sedangkan kandungan lemaknya bervariasi antara 11-21%.

### **C. Nilai Ekonomi Kedelai**

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

Kedelai memiliki manfaat ekonomis yang cukup tinggi sehingga kebutuhan kedelai di dalam negeri cukup tinggi. Produksi nasional kedelai masih belum

mencukupi kebutuhan, rata-rata kebutuhan kedelai per tahun sebesar 2.1 juta ton, sehingga setiap tahun Indonesia selalu mengimpor kedelai. Produksi kedelai juga mengalami penurunan, tercatat produksi pada tahun 2013 sebesar 807.5 ribu ton menurun sebesar 35.6 ribu ton dibandingkan dengan produksi tahun 2012 (Anonymous, 2014).

Menurut Balitkabi (2005) kultivar pangrango mempunyai ukuran biji yang tergolong sedang, serta umur lebih dari 80 hari. Kultivar ini merupakan hasil dari persilangan kultivar lokal lampung dengan davros pada tahun 1983. Kedelai kultivar pangrango memiliki tinggi tanaman 65 cm, warna bunga ungu, biji kuning dengan bentuk bulat dan memiliki bobot 100 biji 10 gr.

#### **D. Cekaman Kekeringan**

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

Menurut Rahayu (2005) senyawa *Polyethylene glycol* (PEG) dapat menurunkan potensial osmotik larutan melalui aktivitas matriks sub-unit etilena oksida yang mampu mengikat molekul air dengan ikatan hidrogen sehingga dapat mengkondisikan cekaman kekeringan.

Secara morfologis terjadinya cekaman kekeringan pada tanaman dapat dilihat dengan memanjangnya akar tanaman untuk menyerap air, mengecilnya permukaan daun sehingga respirasi berkurang, dan menggugurkan daunnya. Terjadinya cekaman kekeringan disebabkan oleh 2 faktor, yaitu: suplai air di perakaran sudah mulai berkurang sehingga akar harus memanjang untuk mendapatkan suplai air tersebut, dan terjadinya laju evaporasi yang lebih tinggi dari pada proses absorpsi air tanah (Lapanjang *et al.*, 2008).

Salah satu faktor lingkungan abiotik yang paling berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman adalah ketersediaan air yang cukup.

Mekanisme ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan adalah menghindari dari kondisi cekaman. Tanaman akan mengalami mekanisme morfologis dan fisiologis untuk menghindari dari cekaman kekeringan.

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

Tanaman dalam merespon suatu cekaman kekeringan dengan cara perubahan morfologis, fisiologis dan biokimia dengan waktu yang berbeda, seperti menutupnya stomata, gejala penuaan daun, pengurangan biomassa dan lain – lain. Respon yang paling sering dilakukan adalah pada perkembangan selnya dimana sel – sel akan terhambat pembelahannya dan perluasannya. Cekaman

ditimbulkan karena kekeringan yang akan mengakibatkan tanaman merespon secara meluas yang dimulai dari ekspresi gen, metabolisme dan dalam pertumbuhannya (Darmawan dan Baharsjah, 1998).

#### **E. Atonik**

Atonik merupakan zat pengatur tumbuh karena senyawa yang dikandungnya berfungsi memacu pertumbuhan tanaman. Zat yang dikandungnya adalah natrium orthophenol (0,2%), natrium para nitrophenol (0,3%), natrium 5-nitroguaiacolat (0,1%), dan 2,4 dinitrophenolat (0,01%) (Afandhie dan Yuwono, 2007).

Keberhasilan dalam kultur jaringan sangat tergantung pada media yang digunakan dan zat pengatur tumbuh karena tidak semua eksplan tanaman dapat tumbuh dalam media tanam. Masing-masing eksplan membutuhkan media tanam yang sesuai berdasarkan pertumbuhan dan perkembangan (Sofia *et al.* 2005).

Zat pengatur tumbuh (ZPT) dalam kultur jaringan sangat diperlukan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan dan diferensiasi sel. Zat pengatur tumbuh adalah senyawa lain yang memiliki karakteristik sama dengan hormon, tetapi diproduksi secara eksogen (Zulkarnain 2009) sedangkan menurut Davies (2002), ZPT adalah senyawa organik yang secara alami disintesis oleh tanaman dan mempengaruhi proses-proses fisiologis pada konsentrasi rendah.

Lingga (1995), menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh tanaman atonik merupakan golongan auksin yang berbentuk cair yang dapat mempercepat perkecambahan, merangsang pertumbuhan akar tanaman, mengaktifkan penyerapan unsur hara, mendorong pertumbuhan vegetatif, dan meningkatkan keluarnya kuncup.

Penggunaan ZPT Atonik dengan takaran 1 mL L<sup>-1</sup> menghasilkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan pada biji duku, karena dengan takaran tersebut Atonik dapat memacu auksin endogen untuk meningkatkan tekanan osmosis sel, sintesis protein, plastisitas dinding sel, dan pembesaran sel tanaman (Sumiati, 2001). Menurut Irma (2013) konsentrasi zat pengatur tumbuh Atonik yang terbaik dan berpengaruh pada pertumbuhan dan hasil tanaman jagung semi yakni pada konsentrasi 2 ml/l air.

Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik kompleks alami yang disintesis oleh tanaman tingkat tinggi, yang berpengaruh pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Dalam kultur jaringan, ada dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan dan organ (Nurfadilah, 2013).

Efek auksin terhadap tanaman adalah menyebabkan terjadinya pembesaran sel sehingga tanaman akan memanjang dan terjadilah pertumbuhan. Jika konsentrasi yang diberikan lebih tinggi daripada konsentrasi optimum maka dapat mendorong pertumbuhan atau mengganggu metabolisme dan perkembangan tumbuhan. Hal ini disebabkan karena pada konsentrasi auksin

yang tinggi, pembesaran sel berlangsung cepat sehingga ukuran sel menjadi besar. Keadaan ini akan menyebabkan reaksi turgor sel dalam sehingga permeabilitas terganggu dan sel akan mengalami kekeringan (Riyadi, 2014).

Istilah auksin berasal dari bahasa Yunani yaitu auksin yang berarti meningkatkan. Auksin ini pertama kali digunakan Frits Went, seorang mahasiswa pascasarjana di negara Belanda pada tahun 1928, yang menemukan bahwa suatu senyawa yang belum dapat dicirikan mungkin menyebabkan fenomena pembengkokan yang dikenal dengan istilah fototropisme, Pertumbuhan dan perkembangan biji juga dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain lingkungan, nutrien, gen dan hormon. (Hendaryono dan Wijayani., 1994)

Pemberian auksin dapat meningkatkan sintesis enzim ini sehingga  $H^+$  akan dipompakan keluar. Peristiwa ini akan menyebabkan lingkungan menjadi asam. Pada kondisi asam, enzim-enzim yang dapat memotong ikatan dinding sel akan teraktifkan, diantaranya glukonase yang akan menghidrolisis rantai utama hemiselulosa. Proses ini menyebabkan pelonggaran dinding sel, sehingga air dapat masuk dan tekanan turgor naik. Tekanan turgor yang naik akan menyebabkan sel mengembang. Pertumbuhan dan perkembangan tidak hanya berkaitan dengan penambahan volume sel namun juga berkaitan dengan bertambahnya jumlah sel. Pertambahan jumlah sel tergantung pada kecepatan sel untuk membelah, yang dipengaruhi oleh adanya sitokinin (L. Taiz dan E. Zeiger., 2002).

## **F. Kultur *In Vitro***

Istilah kultur jaringan digunakan untuk menjelaskan semua prosedur kultur tanaman yang dilakukan secara aseptik menyangkut pertumbuhan protoplas tanaman, sel, jaringan, organ, embrio, dan pertumbuhan planlet. Karena pertumbuhan berlangsung dalam kondisi steril dan dengan lingkungan kultur yang dikondisikan, maka metode ini disebut kultur *In Vitro* (Struik, 1982).

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

Menurut Sirait (2001) metode kultur jaringan mempunyai keunggulan antara lain waktu seleksi lebih singkat, tidak membutuhkan ruang yang luas, mudah dikontrol dan merupakan metode yang sangat cocok untuk digunakan menyeleksi kultivar kedelai yang toleran terhadap kekeringan.

Kultur jaringan merupakan teknik menumbuh-kembangkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan atau organ dalam kondisi aseptik secara *In Vitro*.

Teknik ini dicirikan oleh kondisi kultur yang aseptik, penggunaan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi lengkap dan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh), serta kondisi ruang kultur yang suhu dan pencahayaannya terkontrol (Yusnita, 2003).

Kultur jaringan memiliki 2 prinsip dasar yang jelas yaitu (1) bahan tanaman yang bersifat totipotensi dan (2) budidaya yang terkendali. Konsep dasar ini adalah mutlak dalam pelaksanaan kultur jaringan karena hanya dengan sifat

totipotensi ini, sel, jaringan, organ yang digunakan akan mampu tumbuh dan berkembang sesuai arahan dan tujuan budidaya *In Vitro* yang dilakukan. Sifat bahan yang totipotensi saja tidak cukup untuk kesuksesan kegiatan kultur jaringan. Keadaan media tempat tumbuh, lingkungan yang mempengaruhinya (Kelembaban, temperatur, cahaya) serta keharusan sterilisasi adalah hal mutlak yang harus terkendali (Santoso dan Nursandi, 2004).

Teknik-teknik *In Vitro* mempunyai potensi yang sangat besar untuk membantu konservasi sumberdaya genetik. Teknik Pembibitan secara *In Vitro* telah digunakan secara luas untuk memperbanyak tanaman semenjak protocol mikropropogasi dipublikasikan untuk lebih dari 1500 jenis spesies tanaman. (Tjokrokusumo, 2004).

Eksplan merupakan organ atau sepotong jaringan tanaman yang akan dikulturkan disebut eksplan. Seleksi dan pemilihan sumber eksplan merupakan aspek penting keberhasilan mikropropogasi. Tiga aspek penting yang perlu diperhatikan antar lain (1) sumber karakteristik genetik dan epigenetik, (2) bebas patogen, dan (3) kondisi fisiologi tanaman yang mampu berinisiasi sendiri dengan baik yang akan dikulturkan (Hartmann *et al.*, 2002).

Ukuran eksplan juga berpengaruh terhadap keberhasilan dalam kultur jaringan. Eksplan yang berukuran besar beresiko kontaminasi lebih tinggi dibandingkan dengan yang berukuran kecil, tetapi kemampuan hidupnya lebih besar dan tumbuhnya lebih cepat. Sebaliknya, eksplan berukuran kecil (meristem atau tunas pucuk) kemungkinan terkontaminasi jauh lebih kecil, tetapi tumbuh lebih lambat (Yusnita, 2003).

Medium kultur jaringan terdiri dari bahan-bahan esensial dan komponen pengoptimal, bahan esensial terdiri atas garam-garam anorganik, sumber karbon dan energi, vitamin, dan zat pengatur tumbuh. Sedangkan komponen pengoptimal yang berperan untuk optimalisasi pertumbuhan diantaranya adalah N-organik, asam organik, substrat kompleks, arang aktif, dan lain-lain, hal inilah menjadi faktor kesuksesan kegiatan Kultur jaringan (Santoso dan Nursandi, 2004).

Formulasi yang sering digunakan sebagai media kultur adalah media MS. Media ini merupakan kombinasi antara zat-zat yang mengandung hara makro, mikro, dan sumber energi, serta vitamin. Formulasi media dasar mineral MS dapat digunakan untuk sejumlah besar spesies tanaman pada propagasi secara *In Vitro*. (Wethrel, 1982).

Secara umum agar lingkungan *In Vitro* kegiatan kultur jaringan berjalan baik dan bahan tanaman dapat tumbuh berkembang seperti yang diharapkan maka pada tahap inkubasi di ruang kultur pengendalian temperatur, cahaya, kelembapan, wadah kultur, dan faktor lingkungan lain yang menunjang merupakan hal yang perlu mendapat perhatian (Santoso dan Nursandi, 2004).

Secara umum, intensitas cahaya yang optimum untuk tanaman pada kultur tahap inisiasi kultur adalah 0 – 1000 lux, tahap multiplikasi sebesar 1000 – 10000 lux, tahap pengakaran sebesar 10000 – 30000 lux, dan tahap aklimatisasi sebesar 30000 lux, suhu juga berpengaruh terhadap kesehatan tanaman yang dikulturkan. Suhu yang umum digunakan untuk pengulturan berbagai jenis tanaman adalah  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$  Namun, pada kultur tanaman yang

biasanya memerlukan suhu rendah untuk pertumbuhan terbaiknya (Yusnita, 2003).

Kelembapan relatif di dalam ruang kultur sekitar 70 %. Namun kebutuhan kelembapan di dalam media kultur mendekati 90 %. Pengaruh CO<sub>2</sub> di dalam kultur jaringan berkaitan erat dengan kebutuhan bagi proses fotosintesis. Secara umum diduga bahwa CO<sub>2</sub> merupakan syarat mutlak untuk kultur jaringan tanaman tingkat tinggi dibawah kondisi cahaya. Oksigen (O<sub>2</sub>) juga dibutuhkan oleh kultur jaringan (Zulkarnain, 2009).

Kultivasi sel atau jaringan secara *In Vitro* dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai macam wadah, mulai dari tabung reaksi, tabung Erlenmeyer, botol kultur, bahkan botol gelas sederhana. Hal yang paling penting dalam pemilihan wadah untuk kultur *In Vitro* adalah kemudahan untuk menjaga sterilitasnya selama perbanyakkan sel atau jaringan (Zulkarnain, 2009).

#### **G. Poly Ethylen Glycol (PEG)**

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

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

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

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

Dengan sifat-sifat seperti yang disebut di atas PEG dapat digunakan untuk menginduksi cekaman air dalam kultur *In Vitro*. Faktor lingkungan yang sering dialami oleh tanaman adalah cekaman dimana faktor ini akan mengurangi laju pada proses fisiologis. Tanaman memiliki cara tersendiri untuk menghadapi efek yang akan merusak pada dirinya yang ditimbulkan oleh cekaman. Setiap tanaman akan memberikan respon yang berbeda-beda untuk menghadapi cekaman, semua tergantung pada jenis tanamannya. Apabila tanaman mampu dalam menghadapi cekaman yang terjadi maka tanaman itu bisa dikatakan sebagai tanaman yang memiliki tingkat resisten yang sangat tinggi terhadap cekaman (Mulyani, 2006).

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

## **H. Pertumbuhan tanaman**

Pertumbuhan tanaman pada dasarnya disebabkan oleh pembesaran sel dan pembelahan sel. Oleh sebab itu jumlah sel dapat digunakan sebagai indikator pertumbuhan tanaman dan organ tanaman. Berat tanaman dapat digunakan sebagai indikator pertumbuhan, dalam hal ini dapat dilakukan dengan dua pendekatan, yaitu berdasarkan berat segar dan berat kering (Lakitan, 1996).

Pertumbuhan tanaman merupakan suatu konsep universal dalam biologi dan merupakan hasil dari berbagai proses fisiologi yang berinteraksi dalam tubuh tanaman bersama faktor luar. Proses tersebut berupa penambahan ukuran, bentuk dan jumlah (Sitompul dan Guritno, 1995).

parameter pertumbuhan antara lain bobot segar, bobot kering, penambahan panjang, dan penambahan luas. Jika makhluk hidup mengalami penambahan panjang, penambahan luas, maka makhluk hidup dikatakan mengalami pertumbuhan. Pada perkembangan, misalnya pada tumbuhan mengalami pematangan organ-organ untuk melakukan fotosintesis, untuk melakukan reproduksi (Fried & Hademenos, 2006).

## **I. Biosintesis Klorofil**

Klorofil merupakan pigmen berwarna hijau yang terdapat dalam kloroplas. Pada tumbuhan tingkat tinggi, kloroplas terdapat pada jaringan parenkim palisade dan parenkim spons daun. Dalam kloroplas, pigmen utama klorofil serta karotenoid dan xantofil terdapat pada membran tilakoid (Salisbury dan Ross, 1992).

Sintesis klorofil pada daun digunakan untuk menangkap cahaya dengan jumlah berbeda tergantung pada faktor lingkungan dan genetik setiap spesies. Faktor - faktor yang mempengaruhi sintesis klorofil yaitu cahaya, gula, air, karbohidrat, faktor genetik, temperatur, dan unsur unsur seperti: N, Fe, Mg, Mn, Cu, Zn, S dan Oksigen. Unsur Nitrogen ini merupakan faktor yang penting untuk pembentukan klorofil yang merupakan unsur hara makro. Kekurangan unsur N pada tanaman dapat menyebabkan gejala klorosis pada daun (Hendriyani dan Nantya, 2009).

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

Tiga fungsi utama klorofil dalam proses fotosintesis adalah memanfaatkan energi matahari, memicu fiksasi CO<sub>2</sub> untuk menghasilkan karbohidrat dan menyediakan energi bagi ekosistem secara keseluruhan. Karbohidrat yang dihasilkan dalam fotosintesis diubah menjadi protein, lemak, asam nukleat dan molekul organik lainnya. Klorofil menyerap cahaya yang berupa radiasi elektromagnetik. Cahaya matahari mengandung semua warna spektrum kasat mata dari merah sampai violet, tetapi tidak semua panjang gelombang dapat diserap dengan baik oleh klorofil. Klorofil dapat menampung cahaya yang diserap dengan pigmen lainnya melalui fotosintesis, sehingga klorofil disebut juga sebagai pigmen pusat reaksi fotosintesis (Bahri, 2010).

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

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

Respon tanaman terhadap kekurangan air menyebabkan terjadinya penurunan kandungan klorofil pada daun. Penurunan konsentrasi klorofil pada daun karena adanya respon fisiologis tanaman yang mengalami kekurangan air.

Respon fisiologis tersebut terdiri dari pembentukan klorofil yang terhambat, penurunan enzim rubisco dan terhambatnya penyerapan unsur hara seperti nitrogen serta magnesium yang sangat dibutuhkan tanaman dalam sintesis klorofil (Nio dan Banyo, 2011).

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

## **J. Kandungan Protein**

Protein tumbuhan sangat beragam. Protein dapat diperoleh dari daun dan biji-bijian. Protein biji pada umumnya berkandungan lisina triptopan, metionina dan treoninanya yang rendah (Jhon M.Deman, 1997). Protein merupakan salah satu kelompok bahan makronutrien. Tidak seperti bahan makronutrien seperti lemak dan karbohidrat, protein berperan lebih penting dalam pembentukan biomolekul dari pada sumber energi. Namun demikian apabila organisme sedang kekurangan energi, maka protein ini terpaksa dapat juga dipakai sebagai sumber energi. Kandungan protein rata – rata 4 kilokalori/gram (Sudarmadji,S. 1996).

Protein dapat terdenaturasi dengan adanya pemanasan (diatas 60-70°C), perubahan pH yang drastis, logam berat, radiasi. Perubahan yang nampak setelah protein terdenaturasi yaitu terbentuknya endapan atau terjadinya koagulan sehingga molekul protein tidak berfungsi lagi (Solomon,S.1987).

Protein merupakan suatu polimer heterogen dari molekul-molekul asam amino (Winarno, 1986). Protein yang terkandung dalam biji kedelai merupakan protein globuler. Dalam protein globuler, rantai-rantai samping hidrofilik, polar, berada di bagian luar dan rantai samping hidrofobik, non polar, tersusun pada permukaan dalam (Fessenden dan Fessenden, 1999), sehingga protein tersebut relatif mempunyai kelarutan yang tinggi di dalam air (Putranto, 1992).

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **A. Waktu dan Tempat**

Penelitian dilaksanakan dari bulan November 2016 sampai Januari 2017 di ruang *In Vitro*, Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

#### **B. Alat dan Bahan**

##### 1. Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, Autoklaf alat pemanas tertutup yang digunakan untuk mensterilisasi suatu benda menggunakan uap bersuhu dan bertekanan tinggi 121<sup>0</sup>C, Laminar Air Flow Cabinet (LAF) meja kerja steril untuk melakukan kegiatan inokulasi/ penanaman, pinset, scalpel, mata pisau scalpel alat pemotong eksplan, kertas filter, Erlenmeyer berukuran 50 ml, cawan petri, corong, botol kultur 250 ml digunakan untuk tempat penanaman eksplan, gelas ukur bervolume 100 ml dan 500 ml, kertas label, mikroskop, mikropipet, pipet tip, desikator, spektrofotometer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mortar, timbangan analitik, labu takar, tisu, *waterrbatt* untuk penangas air, dan kamera Nikon.

## 2. Bahan-bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah benih kedelai *Glycine max* (L.) Merr. kultivar pangrango, alkohol 70% untuk sterilisasi alat, akuades, *Poly Ethylene Glycol* (PEG), larutan atonik, reagen biuret, albumin, bahan dasar Murashige dan Skoog (MS) media yang digunakan untuk penanaman eksplan, Benzine Amino Purine (BAP), sukrosa, Plant Preservative Mixture (PPM), Kalium Hidroksida (KOH), Asam Chlorida (HCl), agar, larutan stok organik yaitu sukrosa, vitamin, asam amino, detergen dan baycline (digunakan untuk sterilisasi eksplan).

## C. Rancangan Percobaan

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan percobaan faktorial yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap Faktorial, yang terdiri atas dua faktor yaitu faktor A: larutan atonik yang terdiri dari 3 taraf perlakuan yaitu 0 ml/l ( $a_1$ ), 1 ml/l ( $a_2$ ) dan 2 ml/l ( $a_3$ ) dan faktor B: konsentrasi *Poly Ethylene Glycol* (PEG) yang terdiri atas 3 taraf perlakuan yaitu 0% ( $b_1$ ), 70% ( $b_2$ ), 80% ( $b_3$ ). Masing-masing konsentrasi dilakukan 4 kali pengulangan dan setiap ulangan terdiri dari 5 eksplan biji kedelai dalam setiap botol kultur. Notasi faktor taraf kombinasi perlakuan disajikan pada Tabel 1 dan tata letak percobaan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Notasi faktor taraf kombinasi perlakuan

Faktor B	A			
	Taraf	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>
	b <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>1</sub>
	b <sub>2</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>2</sub>
	b <sub>3</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>3</sub>

Keterangan :

a<sub>1</sub> b<sub>1</sub> : Larutan Atonik 0 ml/l, PEG 6000 0%a<sub>1</sub> b<sub>2</sub> : Larutan Atonik 0 ml/l, PEG 6000 70%a<sub>1</sub> b<sub>3</sub> : Larutan Atonik 0 ml/l, PEG 6000 80%a<sub>2</sub> b<sub>1</sub> : Larutan Atonik 1 ml/l, PEG 6000 0%a<sub>2</sub> b<sub>2</sub> : Larutan Atonik 1 ml/l, PEG 6000 70%a<sub>2</sub> b<sub>3</sub> : Larutan Atonik 1 ml/l, PEG 6000 80%a<sub>3</sub> b<sub>1</sub> : Larutan Atonik 2 ml/l, PEG 6000 0%a<sub>3</sub> b<sub>2</sub> : Larutan Atonik 2 ml/l, PEG 6000 70%a<sub>3</sub> b<sub>3</sub> : Larutan Atonik 2 ml/l, PEG 6000 80%

Tabel 2. Tata letak satuan percobaan

a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>1</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>
a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>3</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>
a <sub>3</sub> b <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>2</sub>
a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>
a <sub>3</sub> b <sub>2</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>3</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>
a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>1</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>1</sub>
a <sub>3</sub> b <sub>3</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>
a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>2</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>
a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>2</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>

Keterangan:

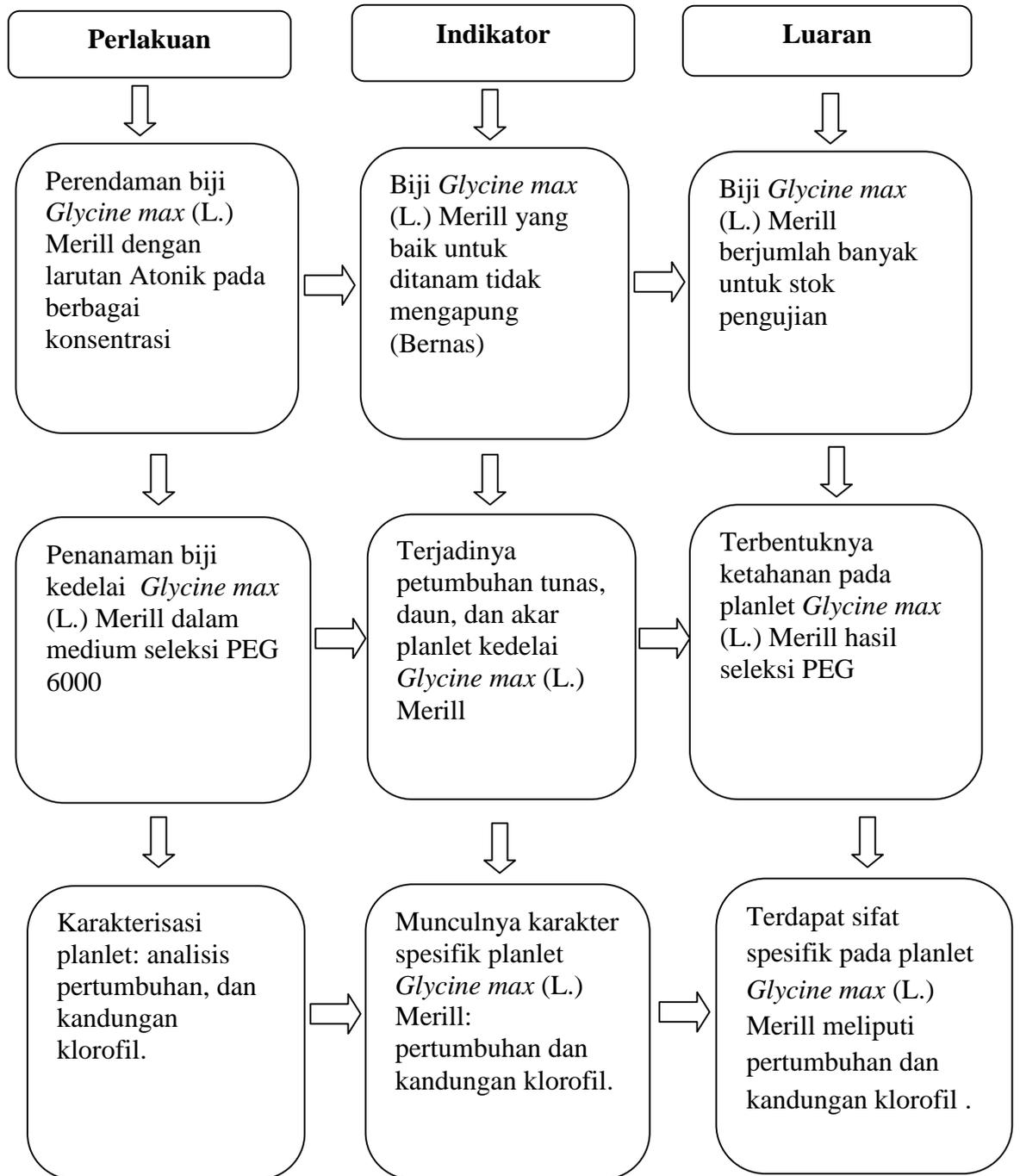
a<sub>1</sub> - a<sub>3</sub> : Konsentrasi Atonikb<sub>1</sub> - b<sub>3</sub> : Konsentrasi PEG 6000

#### **D. Bagan Alir Penelitian**

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap, yaitu : 1) Penentuan kisaran konsentrasi larutan atonik untuk perendaman planlet kedelai kultivar pangrango sebelum penanaman dalam medium, 2) Penanaman planlet kedelai kultivar pangrango ke dalam medium MS yang sudah ditambahkan PEG sesuai konsentrasi, 3) Penentuan kisaran konsentrasi PEG toleran untuk seleksi planlet kedelai kultivar pangrango secara *In Vitro*, 4) analisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet kedelai kultivar pangrango resisten cekaman kekeringan meliputi analisis kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total, persentase jumlah planlet yang hidup, tinggi tanaman yang hidup, berat basah tanaman, panjang akar tanaman, dan visualisasi planlet. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 4 minggu.

Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti tercantum pada

Gambar 1.



**Gambar 5.** Bagan alir penelitian

## **E. Pelaksanaan Penelitian**

Pelaksanaan penelitian meliputi berapa langkah sebagai berikut :

### **1. Sterilisasi Alat**

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

### **2. Persiapan medium tanam**

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

### **3. Persiapan Medium Seleksi**

Medium Murashige dan Skoog (MS) padat ditambah *Poly Ethylene Glycol* (PEG) dengan konsentrasi 0%, 70% , dan 80% (b/v). Sebelum digunakan, *Poly Ethylene Glycol* (PEG) yang telah dilarutkan dengan akuades pada konsentrasi tertentu disaring menggunakan syringe filter yang mempunyai diameter 0,45  $\mu\text{m}$  sebanyak 2 kali dilanjutkan filter berdiameter 0,22  $\mu\text{m}$  satu kali.

Penyaringan dilakukan dalam ruang steril didalam LAF Cabinet. Selanjutnya *Poly Ethylene Glycol* (PEG) ditambahkan ke dalam medium MS. Sebelum digunakan, medium diinkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar (25 °C) untuk memastikan bahwa *Poly Ethylene Glycol* (PEG) telah tersaring dengan baik. Apabila dalam waktu 7 hari tidak terjadi kontaminasi pada medium, maka medium dapat digunakan.

### **4. Induksi planlet dengan larutan atonik**

Larutan atonik dilarutkan terlebih dahulu dengan akuades pada konsentrasi tertentu disaring menggunakan *syringe filter* yang mempunyai diameter 0,45  $\mu\text{m}$  sebanyak 2 kali, dilanjutkan filter berdiameter 0,22  $\mu\text{m}$  satu kali.

Penyaringan dilakukan dalam ruang steril di dalam LAF Cabinet . kemudian larutan atonik diencerkan dengan 3 konsentrasi yaitu 0 ml/l, 1 ml/l, 2 ml/l dan

selanjutnya dilakukan perendaman biji kedelai kultivar pangrango selama 60 menit.

## 5. Persiapan dan Sterilisasi

Benih direndam dalam deterjen selama 5 menit lalu dibilas dengan air mengalir sebanyak 3 kali setelah itu direndam dalam larutan bayclin 20% selama 2 - 3 menit. Biji kedelai dibilas dengan akuades, pembilasan dilakukan dua kali. Setelah itu dipindahkan ke dalam cawan petri selanjutnya benih ditanam pada medium seleksi dengan penambahan ZPT berupa Atonik. Penanaman biji kedelai dilakukan di dalam LAF Cabinet. Setiap botol kultur ditanami 5 biji, sehingga total biji yang ditanam sebanyak 180 dalam 36 botol kultur. Biji-biji kedelai tersebut di tumbuhkan hingga menjadi planlet pada medium MS dengan penambahan senyawa *Poly Ethylene Glycol* (PEG). Inkubasi kultur dilakukan pada ruangan dengan penyinaran  $\pm 1000$  lux, 24 jam/hari dan suhu  $\pm 20$  °C.

## 6. Pengamatan

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

**a. Persentase Jumlah Planlet yang Hidup**

Penghitungan persentase jumlah planlet hidup kedelai dengan menggunakan rumus menurut Nurcahyani *et al.*, (2014).

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

**b. Visualisasi Planlet**

Meliputi warna planlet setelah diseleksi *Poly Ethylene Glycol* (PEG) dengan klasifikasi sebagai berikut: hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna coklat. Data visualisasi planlet disajikan dalam bentuk persentase, yang dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\frac{\text{Jumlah planlet berwarna hijau / hijau coklat / coklat}}{\text{Jumlah seluruh planlet}} \times 100\%$$

(Nurcahyani *et al.*, 2014)

**c. Persentase Tinggi Tanaman yang Hidup**

Menurut penelitian Suryanegara (2010) tinggi tanaman, diukur dari pangkal batang sampai titik tumbuh tanaman (ujung batang) diamati pada umur 2 minggu, 4 minggu, dan 6 minggu serta dinyatakan dalam satuan centimeter (cm).

**d. Pengukuran Berat Basah Tanaman**

Pengukuran berat basah tanaman dilakukan mulai dari minggu ke 1 (7 hari setelah tanam) sampai minggu ke 4 (28 hari setelah tanam) (Sitompul dan Guritno, 1995). Seluruh bagian tanaman yang akan diukur berat basahnya dicabut dan dibersihkan kemudian ditimbang.

**e. Analisis Kandungan Klorofil**

Bahan untuk analisis klorofil menggunakan daun planlet kedelai yang sudah di seleksi dengan *Poly Ethylene Glycol* (PEG), menggunakan metode Harboure (1987) dengan spektrofotometer. Daun planlet kedelai yang seragam sebanyak 0,1 g dihilangkan ibu tulang daunnya, kemudian digerus 100% dengan mortar (pestle) dan ditambahkan 10 mL alkohol 85%. Setelah itu larutan disaring dengan kertas Whatmann No. 1, dan dimasukkan ke dalam flakon serta ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar (aseton 80%) di ambil sebanyak 1mL, kemudian dimasukkan dalam kuvet. Setelah itu dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang ( ) 646 nm dan 663 nm, dengan ulangan tiap sampel sebanyak 3 kali. Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

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

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

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

**f. Pengukuran Panjang akar**

Panjang akar rata-rata merupakan perhitungan panjang rata-rata seluruh akar yang dihasilkan, dengan cara mengukur dari pangkal akar hingga ujung akar (Sitompul dan Guritno, 1995).

**g. Analisis Data**

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet kedelai selama seleksi dengan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan di dukung foto. Data kuantitatif dari setiap parameter di uji homogenitas kemudian dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam pada taraf nyata 5% dan apabila diperoleh hasil perbedaan nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT pada taraf nyata 5%.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari hasil penelitian ini meliputi:

1. Konsentrasi larutan atonik yang toleran untuk seleksi planlet kedelai *Glycine max* (L.) Merr. kultivar Pangrango terhadap cekaman kekeringan adalah 2 ml/l .
2. Konsentrasi toleran PEG 6000 yang mampu menyeleksi planlet kedelai *Glycine max* (L.) Merr. kultivar Pangrango yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro* adalah 70% dan 80% (b/v)
3. Terdapat kombinasi antara larutan atonik dan PEG 6000 terhadap interaksi kandungan klorofil a, b total, berat basah, panjang planlet, dan panjang akar.

### B. Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan untuk analisis parameter yang lain seperti kandungan protein, indeks stomata, sifat agronomis dan molekuler.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto, T dan Wudianto, R. 1999. *Meningkatkan hasil panen kedelai di lahan sawah-kering-pasang surut*. Penebar Swadaya. Bogor. 86 hal.
- Adisarwanto, T. 2005. *Kedelai*. Jakarta : Penebar Swadaya
- Adisarwanto, T. 2009. “*Kedelai*” *Budidaya Dengan Pemupukan Yang Efektif dan Pengoptimalan Bintil Akar*. Penebar Swadaya. Bogor. 86 hal.
- Adisarwanto, T. 2014. *Kedelai tropika produktivitas 3 ton/ha*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Adisarwanto T dan Wudianto R. 2008. *Meningkatkan Hasil Panen Kedelai*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Agung, T dan A. Yugi Rahayu. 2004. Analisis Efisiensi Serapan N, Pertumbuhan, dan Hasil Beberapa Kultivar Kedelai Unggul Baru dengan Cekaman Kekeringan dan Pemberian Pupuk Hayati. *Agrosains* 6(2): 70-74. Semarang.
- BPS (Badan Pusat Statistik). 2014. *Luas Panen, Produktivitas, dan Produksi Kedelai*. <http://www.bps.go.id>. Diakses pada tanggal 05 Maret 2017 Pukul 21.00 WIB.
- Apriantono A, D Fardiaz, N Puspitasari, & S Budiyo. 1989. *Analisis Pangan*. Bogor: IPB Press.
- Astuti, M., Meliala, Andreanya., Fabien, Dalais., Wahlq, and Mark. 2000. Tempe, a nutritious and healthy food from Indonesia. *Asia Pacific J Clin Nutr* (2000) 9(4): 322–325. <http://iqbalali.com/2008/05/07/buat-tempeyuuuuk/>. (Diakses pada tanggal 11 April 2017).
- Badami K dan A. Amzeri. 2010. *Seleksi In Vitro untuk toleransi terhadap kekeringan pada jagung (Zea mays L.) dengan Polyethylene Glycol (PEG)*. *Agrovigor Volume 3 No 1*.
- Balitkabi. 2005. *Teknologi Produksi Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian*. Bogor. 36 hlm.
- Bahri, S. 2010. *Klorofil*. Diktat Kuliah Kapita Selekta Kimia Organik. Universitas Lampung.
- Banyo Y.E., Nio S.Ai., P. Siahaan., dan A.M. Tangapo. 2013. Konsentrasi Klorofil Daun Padi pada Saat Kekurangan Air yang Diinduksi dengan Polietilen Glikol. *Jurnal Ilmiah Sains* Vol 13, No. 1.

- Beyer, E.M. Jr. (1973). Support for a role of ethylene modification of auxin transport. *Plant Physiol.* Halaman 52.
- Cahyadi, W. 2007. *Kedelai : Khasiat dan Teknologi*. Bumi Aksara .Jakarta.
- Cahyadi, W. 2009. *Analisis & Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Edisi Kedua. Bumi Aksara.Jakarta. Halaman 134.
- Caponetti JD., Gray DJ., and Trigiano RN. 2005. *History of Plant Tissue and cell Culture. Plant Development and Biotechnology*. CRC Press Boca Raton London. pp : 9-15.
- Danoesastro, H. 1976. *Zat Pengatur Tumbuh dalam Pertanian*. Yayasan Penelitian Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Darmawan, Januar dan S. J. Baharsjah. 1998. *Dasar-Dasar Fisiologi Tanaman*. Jakarta:SITC
- Daud, I. 1987. *Pengaruh Beberapa Macam Zat Pengatur Tumbuh terhadap Perkecambah dan Pertumbuhan Biji Duku*. Skripsi Sarjana pada Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya. Fakultas Pertanian Unsri, Palembang.
- Demam, J.M., 1997.*Kimia Makanan*. Bandung : Penerbit ITB.
- Djamhari S. 2010. Memecah dormansi rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* R.) menggunakan larutan atonik dan stimulasi perakaran dengan aplikasi auksin. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia* 12: 66-70.
- Djazuli, M. 2010. Pengaruh Cekaman Kekeringan terhadap pertumbuhan dan Beberapa Karakter Morfo-Fisiologi Tanaman Nilam. *Buletin Littro*. 21(1): 10-12.
- Dwidjoseputro. 1994. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta
- Elita Kumianjani A B, Revandy Iskandar Damanik\*, dan Luthfi A. M. Siregar, 2015. Pengaruh Pemberian N 2,4-D Terhadap Pertumbuhan dan Metabolisme Kalus Kedelai Pada Kondisi Hipoksida Secara Invitro. *Jurnal Agroekoteknologi* . (555) :1673 – 1680.
- Erlina. 1989. *Pengaruh Kadar Atonik dan Bobot Rimpang terhadap Pertumbuhan Jahe (Zingiber officinale Rosc.)*. Tesis Fakultas Pertanian UPN, Yogyakarta.
- Fessenden, R. J., Fessenden, J. S. 1999. *Kimia Organik*, Jilid 1, Edisi ketiga. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Fried, George H. dan George J. Hademenos. 2006. *Schaum's Outlines: Biologi Edisi Kedua*. Erlangga. Jakarta.

- Giono, W. 2014. *Ketahanan genotipe kedelai terhadap kekeringan dan Kemasaman, hasil induksi mutasi dengan sinar gamma*. Fakultas Pertanian. Universitas Hasanudin.
- Gunawan, B dan Azhari, C. D. 2010. Karakterisasi Spektrofotometri I R dan Scanning Electron Microscopy (SEM) Sensor Gas dari Bahan Polimer Poly Ethylene Glycol (PEG). *Jurnal ISSN* : 1979-6870.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia dan Penurunan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan Oleh Padmawinata K. Dan Joediro I. Cetakan ke 2. Penerbit ITB. Bandung, Hlm. 234-244.
- Hartmann, H.T., D.E. Kester, F.T. Davies, Jr, R.L. Geneve. 2002. *Plant Propagation: Principles and Practices*. 7th edition. Prentice Hall Inc. 770p.
- Haryati. 2003. *Pengaruh Cekaman Kekeringan Air Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman*. Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani. 1994. *Kultur Jaringan (Pengenal dan Petunjuk Perbanyak Tanaman Secara Vegetatif Media)*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Hendriyani, I. S. dan Nantya, S. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. *Jurnal Sains dan Matematika*. 17 (3).
- Homayoun H, Daliri M.S., and Mehrabi P. 2011. *Effect of Drough Stress on Leaf Chlorophyll in Corn Cultivars (Zea mays)*. Middle-East Journal of Scientific Research 9 (3): Hlm. 418-420.
- Irma, A. 2013. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh Atonik Dan Siapton Terhadap Pertumbuhan Dan Hasil Tanaman Jagung Semi (*Zea Mays L.* ). *Jurnal Agroteknologi*. Gorontalo
- Irwan W.A. 2006. *Budidaya Tanaman Kedelai (Glycine max (L.) Merrill)*. Universitas Padjajaran. Jatinangor.
- Irwanto, 2001. Pengaruh Hormon IBA (*Indole Butyric Acid*) Terhadap Persen Jadi Stek Pucuk Meranti Putih (*Shorea montigena*). Skripsi. Jurusan Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura, Ambon.
- Jumin, H.B. 1992. *Ekologi Tanaman Suatu Pendekatan Fisiologi*. Rajawali Press: Jakarta.
- Koswara, S. 1995. *Teknologi Pengolahan Kedelai*. Pustaka Sinar Harapan, Jakarta.
- Kurniasari, A.M., Adisyahputra dan R.Rosman. 2010. Pengaruh Kekeringan pada Tanah Bergaram Nacl terhadap Pertumbuhan Tanaman Nilam. *Bul. Litro* Vol 21, No. 1. pp : Hal 18- 27.

- Kusumo, S. 1984. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. CV. Yasaguna. Jakarta
- Lakitan, B., 1996. *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lapanjang, I., B.S. Purwoko, Hariyadi, S.W. Budi, dan M. Melati. 2008. Evaluasi beberapa ekotipe jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) untuk toleransi cekaman kekeringan. *Bul. Agron.* 36(3):263-269.
- Lawyer, D.W. 1970. *Absorption of polyethylene glycol by plants either effect on plant growth*. New Physiol
- Lestari EG. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen* 7(1), 63-68.
- Lingga, P. 1995. *Hidroponik Bercocok Tanam Tanpa Tanah*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Li, J. et al 2000. 'Apoptosis and Apoptosis-Related Gene Expression in Nasopharyngeal Carcinoma'. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, Vol. 22, No.2, pp. 158-60
- Li, R.P.G., M. Baum, S. Grando and S.Ceccarelli. 2006. Evaluation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Barley. *Agricultural Sciences in China*. Vol 5, No. 10. pp : 751-757.
- Marzempi, Y. Jastr, dan D. Sastrodipuro. 1993. *Penentuan umur panen optimum padi sawah pegunungan varietas Batang Agam dan Batang Ombilin*. Pemberitaan Penelitian Sukarami.
- Mulyani. S. 2006. *Anatomi Tumbuhan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Mulyono, D. 2003. *Pengaruh Pupuk Daun dan Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Pertumbuhan Vegetatif Tanaman Lada*. In Prosiding Seminar Teknologi untuk negeri, Vol. II, BPPT Jakarta, hal. 48 –54.
- Mexal., J. J.T Fisher., J. Osteryoung and C.P. particks Reid. 1975. Oxygen Aviability in Polyetylena Glycol Solution and its Implications in Plant Water Relation. *Plant Physiol* Vol 55, pp : 915-916.
- Nelson, P. V., 1991. *Greenhouse Operation and Management*. Reston Publishing Company, Inc, Virginia.
- Nio Song A dan Y. Banyo. 2011. *Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman*. *Jurnal Ilmiah Sains* Vol 11, No. 2.
- Nio Song A dan A. A. Lenak. 2014. *Penggulungan Daun Pada Tanaman Monokotil Saat Kekurangan Air*. *Jurnal Bioslogos*, Agustus 2014, Vol 4 No.2.

- Nurchayani, E., Hadisutrisno B., Sumardi, 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.
- Nurfadilah. 2013. *Uji Bioaktifitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Lamun dari Kepulauan Spermonde*. Kota Makassar. Skripsi, FKIP, Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Oertli J J.1985. The response of Plant Cells to Different Forms of Moisture stress. *Jurnal of Plant Physiology* Vol 121, pp : 295–300.
- Permadi, A. H., A. Wasito dan E. Sumiati. 1989. *Morfologi dan Pertumbuhan Kentang*. Balai Penelitian Hortikultura. Lembang.
- Rahayu, E, Guhardja, E dan Ilyas, S. 2005. *PEG dalam Media In Vitro menyebabkan kondisi Stress yang menghambat Tunas Kacang Tanah*. Jurnal Penelitian.
- Rubatzky, V. E. dan M. Yamaguchi, 1998. *Sayuran Dunia 2 Prinsip, Produksi, dan Gizi*. ITB, Bandung.
- Riyadi, I. 2014. *Media Tumbuh : Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh dan Bahan-bahan Lain*. Materi disampaikan pada Pelatihan Kultur Jaringan Tanaman Perkebunan. BPBPI Bogor 19 – 23 Mei 2014.
- Salisbury, dan Ross. 1992. *Fisiologi Tumbuhan*. ITB Press. Bandung
- Santoso, U. dan Nursandi, F. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Santos\_Diaz, M.S. and N. Ochoa-Alejo. 1994. *PEG-tolerant cell clones of chili pepper growth, osmotic potential and solute accumulation. Plant Sell Tiss and Org Cult.37:1-8*.
- Savitri, S.S., S. Bahri, Syekhfani, dan T. Adisarwanto. 2003. *Respon Varietas Kedelai (Glycine max (L.) Merr.) pada Perbedaan Kondisi Lengas Tanah*. Tesis, Universitas Brawijaya, Malang. 102 hlm.
- Sirait B. 2001. *Evaluasi Karakter Morfofisiologis dan Produksi Galur Kedelai (Glycine max (L) Merr) Toleran Aluminium yang Diseleksi Secara In Vitro*. [Tesis]. Program Pascasarjana IPB. Bogor.
- Sitompul, S.M dan B. Guritno. 1995. *Analisis Pertumbuhan Tanaman*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

- Sloane RJ, Patterson RP, Carter TE. 1990. Field drought tolerance of soybean plant introduction. *Crop Sci* 30:118-123.
- Solomon, S. 1987. *Introduction To General, Organik and Biological Chemistry*. McGraw-Hill. New York.
- Struik, P. C dan Deinum, B., 1982. Effect of light intensity after flowering on the productivity and quality of Silage maize. *Neth J Agric Sei* 30: 297-316.
- Sugeng. 2010. *Bercocok Tanam Palawija*. CV Aneka Ilmu. Demak. 54 hlm.
- Sudarmadji, Slamet dkk. 1996. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta.
- Suparwoto, Waluyo, dan Jumakir. 2006. *Pengaruh atonik terhadap perkecambahan biji duku*. *Jurnal Agronomi X(2)*: 77–79.
- Suryanegara. 2010. *Pengaruh pengaturan jarak tanam terhadap pertumbuhan dan produksi kacang panjang (Vigna sinensis)*. Jurusan pendidikan Biologi. Universitas pendidikan Ganesha. Singaraja.
- Suprpto, H. 1992 . *Bertanam Jagung*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sutjahjo SH., Abdul K dan Ika M. 2007. Efektifitas Polietelena Glikol Sebagai Bahan Penyeleksi Kalus Nilam yang diradiasi Sinar Gamma untuk Toleransi Terhadap Cekaman Kekeringan. *Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia. Vol 9, No. 1. Pp : 48-57*.
- Suryanegara. 2010. *Pengaruh pengaturan jarak tanam terhadap pertumbuhan dan produksi kacang panjang (Vigna sinesis)*. Jurusan pendidikan Biologi. Universitas pendidikan Ganesha. Singaraja
- Suyanti, Mukarlina, Rizalinda. 2013. *Respon pertumbuhan stek pucuk keji beling (Strobilanthes crispus BI) dengan pemberian IBA (Indole Butyric Acid)*. *Protobiont 2 (2)*: 26-31.
- Taiz, L. and Zeiger. E. 2002. *Plant Physiology* (3 rd Edition). Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland Massachusetts .
- Tjokrokusumo, 2004. *Apotik Hidup dan Rempah-Rempah, Tanaman Hias, dan Tanaman Liar*. Yrama Widya. Bandung.
- Utaminingsih. 2012. *Mikrosporogenesis Cabai Merah Besar (Capsicum annum L.) Akibat Cekaman Kekeringan*. Tesis. Program Studi Biologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Wetherell, D.F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman Secara In Vitro*. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Winarno, F. G. 1986. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta. Gramedia Pustaka Utama.

Winarno, F.G., 1993. *Pangan Gizi Teknologi dan Konsumen*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Yudiwanti, Sepriyana, W.R, Budiarti,S.G. 2010. *Potensi Beberapa Varietas Jagung Untuk Dikembangkan Sebagai Varietas Jagung Semi*. IPB. *J. Horti* 20(2):157-163

Yusnita, 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Agromedia Pustaka. Jakarta.

Zulkarnain, 2009. *Kultur Jaringan Tanaman: Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Bumi Aksara. Jakarta