

**KAJIAN EFEK LARUTAN ATONIK PADA PLANLET ANGGREK
DENDROBIUM (*Dendrobium* sp.) DALAM KONDISI CEKAMAN
KEKERINGAN SECARA *IN VITRO***

(Skripsi)

Oleh

Fesya Salma Putri



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRAK

KAJIAN EFEK LARUTAN ATONIK PADA PLANLET ANGGREK DENDROBIUM (*Dendrobium sp.*) DALAM KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN SECARA *IN VITRO*

Oleh

Fesya Salma Putri

Anggrek *Dendrobium (Dendrobium sp.)* merupakan tanaman hias yang digemari masyarakat dan bernilai ekonomi tinggi. Salah satu kendala dalam pertumbuhan anggrek di Indonesia yaitu kelembaban yang rendah dan ketersediaan air yang kurang. Dengan adanya penambahan zat pengatur tumbuh berupa larutan Atonik, dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui konsentrasi atonik yang optimum terhadap cekaman kekeringan, mengetahui konsentrasi PEG yang toleran untuk seleksi planlet dendrobium yang resisten terhadap cekaman kekeringan, mengetahui interaksi larutan atonik dan PEG 6000 dan mengetahui karakter ekspresi pada planlet anggrek *Dendrobium*. Rancangan percobaan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan 2 faktor, faktor A yaitu larutan atonik dengan 3 taraf perlakuan, 0 ml/l, 2 ml/l, 3 ml/l dan faktor B yaitu PEG 6000 dengan 3 taraf perlakuan, 0%, 20% dan 25%. Homogenitas ragam dilakukan dengan uji Levene dan dilanjutkan dengan Analisis ragam dilakukan pada taraf nyata 5% dan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi larutan atonik yang optimum untuk seleksi planlet anggrek *Dendrobium* terhadap cekaman kekeringan secara *In vitro* adalah 2 ml/l, konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk seleksi planlet anggrek dendrobium yang resisten cekaman kekeringan yaitu 20% dan 25%. kombinasi perlakuan yang terbaik pada PEG 25% dan atonik 0 ml/l terhadap kandungan klorofil dan kombinasi perlakuan PEG 20% dan atonik 2 ml/l terhadap indeks stomata sedangkan interaksi antara PEG 6000 dan atonik tidak nyata terhadap kandungan karbohidrat.

Keyword: Atonik, *Dendrobium (Dendrobium sp.)*, *Poly Ethylene Glycol* 6000

**KAJIAN EFEK LARUTAN ATONIK PADA PLANLET ANGGREK
DENDROBIUM (*Dendrobium* sp.) DALAM KONDISI CEKAMAN
KEKERINGAN SECARA *IN VITRO***

Oleh

FESYA SALMA PUTRI

Skripsi

**Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
SARJANA SAINS**

pada

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



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

Judul Skripsi : **KAJIAN EFEK LARUTAN ATONIK PADA
PLANLET ANGGREK DENDROBIUM
(*Dendrobium* sp.) DALAM KONDISI CEKAMAN
KEKERINGAN SECARA *IN VITRO***

Nama Mahasiswa : **Fesya Salma Putri**

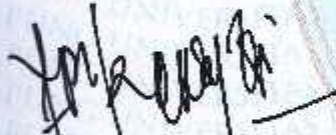
No. Pokok Mahasiswa : 1417021043

Jurusan : Biologi

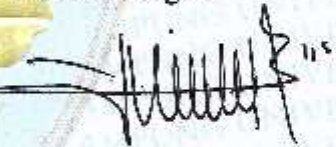
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Pembimbing I


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

Pembimbing II


Dra. Yulianty, M.Si.
NIP 19650713 199103 2 002

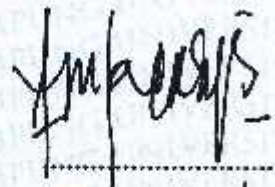
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA


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

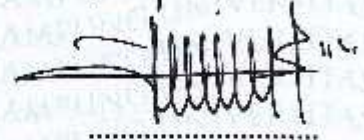
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

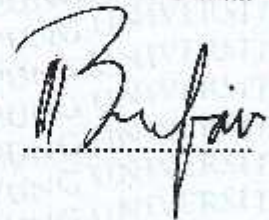
Ketua : **Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.**



Sekretaris : **Dra. Yullanty, M.Si.**

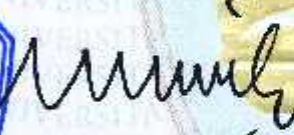


Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. Bambang Irawan, M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




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



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 26 April 2018

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Kota Bandar Lampung pada tanggal 19 Agustus 1996, sebagai anak ketiga dari tiga bersaudara, dari Bapak Singa Majadilaga, A.Md dan Ibu Ernita Yeni Noverda, S.E.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di Sekolah Dasar Negeri 2 Rawa Laut (Teladan) Bandar Lampung pada tahun 2002.

Pada tahun 2008, penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Menengah Pertama Negeri 23 Bandar Lampung. Pada tahun 2011 penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Menengah Atas Yayasan Pembina Universitas Lampung (YP Unila) Bandar Lampung.

Pada tahun 2014, penulis tercatat sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung melalui Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dan melaksanakan kuliah di perguruan tinggi hingga meraih gelar Sarjana Sains pada tahun 2018, serta mendapatkan beasiswa Peningkatan Prestasi Akademik (PPA) selama satu semester, yakni semester ganjil tahun ajaran 2017-2018. Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Biologi Umum, Kultur Jaringan

Tumbuhan dan Fitohormon Jurusan Biologi, FMIPA. Penulis juga aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota Bidang Kaderisasi 2015-2016.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata pada Bulan Januari-Februari 2017 di Desa Komerling Putih, Kec. Gunung Sugih, Kab. Lampung Tengah. Pada Bulan Juli-Agustus 2017, penulis melaksanakan Kerja Praktik di Pusat Pembibitan Anggrek “Soerjanto Orchids” di Kota Batu, Jawa Timur dengan judul **“Perbanyak Anggrek Dendrobium (*Dendrobium* sp.) Menggunakan Medium Vacin and Went secara *In Vitro* di Soerjanto Orchids, Batu, Jawa Timur”**. Penulis melaksanakan penelitian pada bulan November-Desember di Laboratorium Botani ruang penelitian *In Vitro*, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung.

Puji syukur kepada **Allah SWT** yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya

Kedua Orang tua terbaikku yang telah mendidik, mendukung, mengasihi, dan mendoakan tiada hentinya.

Kakak-Kakak yang paling kusayangi dan selalu memberi dukungan serta semangat.

Bapak dan Ibu Dosen yang telah memberikan ilmu, motivasi dan bimbingan selama ini.

Sahabat-sahabat terkasih yang memberikan dukungan dan warna dalam kehidupanku.

Almamater Tercinta

Motto

Man Jadda Wa Jadda, Man Shobaru Zafiro

Barang siapa yang bersungguh-sungguh akan mendapatkannya, barang siapa yang bersabar pasti akan beruntung

“Barang siapa yang bersungguh-sungguh, sesungguhnya kesungguhan tersebut untuk kebaikan dirinya sendiri (QS. Al-Ankabut: 6)”

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan (QS. Asy-Syarhi: 5-6)”

“Barang siapa keluar rumah hendak menuntut ilmu maka ia dalam jihad fisabilillah hingga kembali (HR- Bukhori)”

SANWACANA

Segala Puji dan Syukur penulis ucapkan kepada Tuhan yang Maha Esa atas berkah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Kajian Efek Larutan Atonik pada Planlet Anggrek *Dendrobium (Dendrobium sp.)* dalam Kondisi Cekaman Kekeringan Secara *In Vitro*”** dengan sebaik-baiknya.

Penulis menyadari ini bukanlah hasil jerih payah sendiri melainkan berkat bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak sehingga penulisan skripsi ini dapat selesai. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis menyampaikan penghargaan dan ucapan terimakasih kepada:

1. Keluarga tercinta terutama ayah Singa Majadilaga, Ibu Ernita Yeni, kakak-kakak tercinta Sierta Putri, Alan Farona dan Okta Saktiyandi yang selalu memberi dukungan, nasihat dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si, selaku Pembimbing I serta Pembimbing Akademik yang telah memberikan banyak masukan, bimbingan dan nasihat dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Drs. Yulianty, M.Si. selaku Pembimbing II yang telah memberikan masukan, bimbingan dan nasihat kepada penulis.

4. Bapak Dr. Bambang Irawan, M.Sc. selaku Pembahas yang telah memberikan masukan, kritik dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku Rektor Universitas Lampung.
6. Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
7. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung
8. Semua Dosen dan *staff* di Jurusan Biologi atas ilmu yang diberikan.
9. Teman-teman seperjuangan Tara, Anis, Nadya R serta tim kuljar 2014 Nadia F, Nalindri, Sindy, Genta dan Essy atas bantuan dan kerjasama
10. Teman-teman terkasih Davina, Tara, Mia, Sarti, Indah dan Mitha yang selalu setia dan menemani dari awal perkuliahan hingga penyelesaian skripsi ini
11. Sahabat-sahabatku Kiko, Nadya, Gena, Uli, Lusy, Ersya, Shalsa, Amira
12. Teman-teman Kuliah Kerja Nyata desa Komering Putih Kec. Gunung Sugih atas pengalaman yang tak akan terlupakan
13. Teman-teman Biologi angkatan 2014 yang tidak dapat disebutkan satu-persatu, terimakasih atas kebersamaan dan dukungan untuk penulis.
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, akan tetapi semoga skripsi ini dapat memberikan informasi yang tepat sehingga dapat digunakan sebagai bahan rekomendasi di kemudian hari.

Bandar Lampung, 26 April 2018
Penulis

Fesya Salma Putri

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
PERSEMBAHAN	vi
MOTTO	vii
SANWACANA	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Manfaat Penelitian	4
D. Kerangka Pemikiran.....	5
E. Hipotesis.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tanaman Anggrek Dendrobium.....	7
B. Syarat Tumbuh Anggrek Dendrobium.....	10
C. Cekaman Kekeringan	11
D. <i>Poly Ethylene Glycol</i>	12
E. Atonik	13
F. Kultur Jaringan <i>in vitro</i>	15

G. Biosintesis Klorofil	17
H. Karbohidrat	18
I. Stomata.....	19
III. METODE KERJA	21
A. Waktu dan Tempat	21
B. Alat dan Bahan.....	21
C. Rancangan Percobaan	22
D. Bagan Alir Penelitian	25
E. Pelaksanaan Penelitian	27
1. Sterilisasi Alat.....	27
2. Persiapan Medium Tanam	27
3. Persiapan Medium Seleksi	28
4. Induksi Planlet Dengan Larutan Atonik.....	28
5. Penanaman Eksplan	28
6. Pengamatan	29
a. Persentase Jumlah Planlet yang Hidup	29
b. Visualisasi Planlet	29
c. Analisis Kandungan Klorofil	29
d. Analisis Kandungan Karbohidrat.....	30
e. Indeks Stomata.....	31
7. Analisis Data	32
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
A. Persentase Jumlah Planlet Hidup dan Visualisasi Planlet	33
B. Uji Kandungan Klorofil Planlet Anggrek Dendrobium	38
1. Kandungan Klorofil a	39
2. Kandungan Klorofil b	41
3. Kandungan Klorofil Total.....	43
C. Uji Kandungan Karbohidrat Terlarut Total	46
D. Uji Indeks stomata	48
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	53
A. Simpulan	53
B. Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	62

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Notasi Faktor Kombinasi Perlakuan	23
Tabel 2. Tata Letak Satuan Percobaan	24
Tabel 3. Persentase Jumlah Planlet yang Hidup.....	34
Tabel 4. Persentase Visualisasi Planlet Anggrek Dendrobium	34
Tabel 5. Uji Kandungan Klorofil a Planlet Anggrek Dendrobium 3 Minggu Setelah Perlakuan Kombinasi Atonik dan PEG 6000.....	39
Tabel 6. Uji Kandungan Klorofil b Planlet Anggrek Dendrobium 3 Minggu Setelah Perlakuan Kombinasi Atonik dan PEG 6000.....	41
Tabel 7. Uji Kandungan Klorofil Total Planlet Anggrek Dendrobium 3 Minggu Setelah Perlakuan Kombinasi Atonik dan PEG 6000.....	44
Tabel 8. Uji Kandungan Karbohidrat Terlarut Total 3 Minggu Setelah Perlakuan Kombinasi Atonik dan PEG 6000.....	47
Tabel 9. Uji Indeks Stomata Planlet Anggrek Dendrobium 3 Minggu Setelah Perlakuan Kombinasi Atonik dan PEG 6000.....	50
Tabel 10. Komposisi Medium Vacin and Went	62
Tabel 11. Analisis Ragam Kandungan Klorofil a	64
Tabel 12. Analisis Ragam Kandungan Klorofil b	66
Tabel 13. Analisis Ragam Kandungan Klorofil Total.....	68
Tabel 14. Analisis Ragam Kandungan Karbohidrat.....	70
Tabel 15. Analisis Ragam Indeks Stomata.....	72

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Bunga Anggrek Dendrobium	9
Gambar 2. Struktur Kimia <i>Poly Ethylene Glycol</i>	13
Gambar 3. Bagan Alir Penelitian	26
Gambar 4. Planlet Anggrek Dendrobium 3 Minggu Setelah Perlakuan Kombinasi Atonik dan PEG 6000	36
Gambar 5. Kurva Interaksi antara Larutan Atonik dan PEG 6000 Terhadap Kandungan Klorofil a Planlet Anggrek dendrobium	40
Gambar 6. Kurva Interkasi antara Larutan Atonik dan PEG 6000 Terhadap Kandungan Klorofil b Planlet Anggrek dendrobium	43
Gambar 7. Kurva Interaksi antara Larutan Atonik dan PEG 6000 Terhadap Kandungan Klorofil Total Planlet Anggrek dendrobium.....	45
Gambar 8. Permukaan bawah daun planlet anggrek Dendrobium, menunjukkan stomata daun (A) tidak diberi PEG 600, (B) diberi PEG 6000.	49
Gambar 9. Kurva Interaksi antara PEG 6000 dan Atonik terhadap Indeks Stomata Planlet Anggrek Dendrobium	51
Gambar 10. Diagram Batang Kandungan Karbohidrat Planlet Anggrek Dendrobium.....	74
Gambar 11. Pembuatan medium Vacin and Went	75
Gambar 12. Induksi PEG 6000 ke medium tanam.....	75
Gambar 13. Perendaman planlet dalam larutan atonik	76
Gambar 14. Penanaman planlet dalam medium seleksi.....	76
Gambar 15. Pengukuran intensitas cahaya menggunakan lux meter.....	76

Gambar 16. Larutan ekstraksi untuk analisis karbohidrat.....	77
Gambar 17. Larutan ekstraksi untuk analisis klorofil	77
Gambar 18. Pengamatan Indeks Stomata.....	77

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis dengan tingkat biodiversitas yang tinggi. Di Indonesia terdapat kurang lebih 5000 jenis anggrek yang tersebar di berbagai wilayah di Indonesia (Latif, 1960). Anggrek merupakan salah satu tanaman hias yang memiliki nilai ekonomis tinggi sehingga banyak dibudidayakan dalam skala tinggi. Banyak upaya yang dilakukan untuk menghasilkan bibit anggrek yang unggul. Salah satu upaya yang dilakukan yaitu dengan dilakukannya persilangan. Anggrek hibrida hasil persilangan biasanya lebih banyak diminati oleh masyarakat dibandingkan anggrek spesies dikarenakan anggrek hibrida memiliki warna, bentuk dan ukuran bunga yang lebih beragam dan bervariasi (Clemants, 2004). Penelitian dan pustaka mengenai anggrek sangat diperlukan untuk menunjang budidaya anggrek.

Dendrobium merupakan salah satu kekayaan yang Indonesia miliki dan jumlahnya yang diperkirakan sekitar 275 jenis (Gandawidjaya dan Sastrapradja, 1980). *Dendrobium* memiliki warna yang sangat indah dan cantik serta warna bunganya yang tidak mudah pudar dan tidak mudah layu. Anggrek ini termasuk anggrek yang pertumbuhannya lebih cepat

dibandingkan dengan jenis-jenis anggrek lainnya dan anggrek ini paling banyak ditanam oleh masyarakat karena harganya yang relatif murah dan pemeliharaannya tidak terlalu sulit (Indarto, 2011).

Tanaman anggrek memiliki ciri khas pada buahnya karena memiliki banyak biji yang bersifat mikroskopis dan proses perkembangan embrionya berbeda dari tanaman lainnya. Biji anggrek tidak memiliki endosperm sehingga di alam biji anggrek harus bersimbiosis dengan mikoriza untuk dapat berkecambah. Teknik kultur dapat meningkatkan presentase perkecambahan biji dan budidaya anggrek dalam skala besar (Arditti, 1992).

Teknik kultur *in vitro* mempunyai kendala umumnya pada tahap aklimatisasi yaitu pada saat pemindahan planlet anggrek ke lingkungan *ex vitro*. Tahap aklimatisasi memiliki resiko kematian planlet yang dipindahkan karena perbedaan kondisi ketika di dalam botol dan di luar botol. Anggrek yang dipindahkan ke lingkungan luar akan cenderung mengalami kekeringan dan beresiko mati (Kumar dan Rao, 2012).

Cekaman kekeringan merupakan faktor utama penyebab kematian dalam budidaya anggrek. Kekeringan pada tanaman anggrek dapat disebabkan karena kelembaban yang rendah dan ketersediaan air yang kurang (Hendaryono, 2000). Menurut Haryati (2003), kekurangan air dapat mengganggu aktivitas fisiologis maupun morfologis sehingga dapat menghentikan pertumbuhan. Cekaman kekeringan pada tanaman dapat disimulasikan dengan menginduksi *Polyethylene Glycol* (PEG) dengan berat molekul lebih dari 4000 pada medium *in vitro* karena tidak menyebabkan

tanaman keracunan (Lawyer, 1970). 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 toleran terhadap cekaman kekeringan sehingga dapat digunakan untuk mensimulasi besarnya potensial air tanah (Badami dan Amzeri, 2010).

Salah satu upaya peningkatan produksi tanaman anggrek *Dendrobium* yaitu dengan pemberian Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) (Septiatin, 2008). Salah satu ZPT yang bisa digunakan yaitu atonik. Atonik merupakan zat perangsang tumbuhnya akar, mengaktifkan penyerapan unsur hara, meningkatkan keluarnya kuncup dan buah, serta dapat memperbaiki kualitas tanaman (Sumiati, 2001).

Sejauh ini belum ada penelitian tentang kajian efek larutan atonik pada planlet anggrek *Dendrobium* (*Dendrobium* sp.) dalam kondisi cekaman kekeringan secara *in vitro*, sehingga penelitian ini perlu dilakukan.

B. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui konsentrasi larutan atonik yang optimum untuk seleksi planlet Anggrek *Dendrobium* (*Dendrobium* sp.) terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*
2. Untuk mengetahui konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk seleksi planlet Anggrek *Dendrobium* (*Dendrobium* sp.) yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*
3. Mengetahui interaksi antara larutan atonik dan PEG 6000 terhadap kandungan klorofil, kandungan karbohidrat, indeks stomata dan pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium* (*Dendrobium* sp.)
4. Mengetahui dan menganalisis karakter ekspresi spesifik planlet anggrek *Dendrobium* (*Dendrobium* sp.) yang mengalami cekaman kekeringan meliputi kandungan klorofil, indeks stomata, dan kandungan karbohidrat

C. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai penggunaan larutan atonik dan *Polyethylene Glycol* 6000 terhadap planlet anggrek *Dendrobium* terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.

Planlet yang toleran terhadap cekaman kekeringan diharapkan mampu memberikan kontribusi ilmiah bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya pada bidang pemuliaan tanaman dan ilmu terapan yang terkait.

D. Kerangka Pemikiran

Anggrek merupakan salah satu tanaman hias yang digemari masyarakat dan bernilai ekonomis yang tinggi. Banyak sekali upaya yang dilakukan untuk membudidayakan anggrek dan ingin menghasilkan bibit anggrek yang unggul. Salah satu anggrek yang banyak dibudidayakan yaitu *Dendrobium* (*Dendrobium* sp.). Anggrek *dendrobium* termasuk anggrek yang pertumbuhannya lebih cepat dibandingkan jenis-jenis anggrek lainnya.

Cekaman kekeringan bisa menjadi faktor utama yang menyebabkan tanaman anggrek tidak dapat tumbuh di dalam lingkungan yang kering. Kita tahu bahwa tanaman anggrek merupakan tanaman yang membutuhkan tingkat kelembaban yang tinggi sehingga sukar hidup di lingkungan yang kering. Penggunaan larutan atonik dan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 merupakan salah satu cara untuk melakukan seleksi pada tanaman anggrek sehingga toleran terhadap cekaman kekeringan.

Planlet yang dapat tumbuh setelah diinduksi larutan atonik dalam media yang mengandung *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 dalam berbagai konsentrasi diduga mampu bertahan di kondisi kekeringan. Berdasarkan penelitian Jamil (2015) konsentrasi PEG 6000 20% merupakan konsentrasi yang toleran untuk seleksi tanaman vanili dalam kondisi cekaman kekeringan. Dan berdasarkan penelitian Sitinjak (2015), zat pengatur tumbuh atonik 1 ml/l efektif meningkatkan pertumbuhan stek pucuk tanaman kakao.

E. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Terdapat konsentrasi larutan atonik yang optimum untuk seleksi planlet anggrek *Dendrobium* terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*
2. Terdapat konsentrasi *Poly Ethylene Glycol* 6000 yang toleran untuk seleksi planlet anggrek *Dendrobium* yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*
3. Terdapat interaksi antara larutan atonik dan PEG 6000 terhadap kandungan klorofil, kandungan karbohidrat, indeks stomata dan pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium*
4. Terdapat karakter ekspresi yang spesifik pada planlet anggrek *Dendrobium* yang mengalami cekaman kekeringan meliputi kandungan klorofil, kandungan karbohidrat dan indeks stomata.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Anggrek *Dendrobium*

Suku Orchidaceae atau yang lebih dikenal dengan nama anggrek merupakan salah satu suku terbesar dalam Angiospermae. Orchidaceae terdiri dari 700 genus dan 35000 spesies yang tersebar di seluruh dunia (Oliveira dan Faria, 2005). Ciri khas yang dimiliki anggrek yaitu mempunyai 3 helai kelopak bunga yang salah satunya mengalami labelum (Darmono, 2004).

Klasifikasi tanaman anggrek *Dendrobium* dalam sistem klasifikasi Cronquist (1981) dan APG II (2003) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Ordo : Asparagales
Famili : Orchidaceae
Genus : *Dendrobium*
Spesies : *Dendrobium* sp.

Pada tahun 1800, anggrek *Dendrobium* ditemukan oleh Olof Swarts yaitu seorang ahli botani yang terkenal. *Dendrobium* berasal dari dua kata yaitu *Dendro* yang berarti batang dan *bium* yang berarti hidup. Dengan demikian,

walaupun tidak memiliki daun dan hanya memiliki batang, *Dendrobium* tetap hidup selama batangnya tetap hijau (William, 1984).

Anggrek *Dendrobium* merupakan salah satu tanaman anggrek yang tersebar luas di hutan tropis. Keunggulan dari *Dendrobium* adalah warna kuntum bunganya tidak mudah pudar serta kuntum bunganya yang tidak mudah rontok dan layu. Anggrek *Dendrobium* memiliki morfologi yang sangat beragam dari ukuran bunga, bentuk bunga, warna dan panjang tangkainya (Bose dan Battcharjee, 1980). *Dendrobium* termasuk dalam golongan simpodial yaitu anggrek dengan pertumbuhan batang lurus ke atas dan terbatas yang akan berhenti setelah mencapai titik maksimal. Kemudian dilanjutkan dengan pertumbuhan tunas atau anakan baru dan tumbuh membesar (Gunawan, 2002).

Berdasarkan cara hidupnya, sebagian besar anggrek *Dendrobium* termasuk tanaman *epifit* yaitu hidupnya menempel atau menumpang pada batang tanaman lainnya tanpa merugikan tanaman yang ditumpangnya. Sebagian kecil anggrek *Dendrobium* ada yang hidupnya bersifat *lithofit* atau hidupnya menempel pada batu dan ada juga yang hidupnya bersifat *terrestrial* atau hidup dengan mengambil nutrisi dari dalam tanah (William, 1989).

Akar anggrek *Dendrobium* merupakan akar lekat dan akar udara. Akarnya mempunyai lapisan velamen yang berongga seperti jaringan bunga karang. Pada bagian bawah terdapat lapisan yang mengandung klorofil (Gunawan, 2002).

Daun pada anggrek *Dendrobium* berbentuk lanset dan ujung daunnya tidak simetris. Letak daunnya tersusun dalam dua baris berhadapan dan bersilangan (Sastrapradja, dkk., 1976). Menurut William (1989), anggrek ini mempunyai tipe-tipe dalam pertumbuhan daunnya. Tipe pertumbuhan anggrek *Dendrobium* yaitu *evergreen* atau tidak pernah menggugurkan daunnya. *Dendrobium* menggugurkan daunnya setelah satu musim dan tipe yang tetap dorman setelah periode kering.

Bunga anggrek *Dendrobium* biasanya termasuk biseksual yang terdiri dari dua lingkaran (Paul, 1963). Lingkaran luar berbentuk sepal atau kelopak bunga dan lingkaran dalam berbentuk petal atau mahkota bunga. Satu petalnya berdiferensiasi menjadi bibir bunga atau sering disebut dengan *labelum* (Warren dan Tettoni, 1996). Pada umumnya, bunga muncul pada ujung tunas atau apikal. Akan tetapi, pada tanaman dewasa bunga justru muncul di ketiak daunnya (Sandra, 2005). Organ reproduksi pada anggrek terdiri dari dua organ yaitu organ kelamin jantan atau *pollinia* dan organ kelamin betina atau *gynostemum* (Paul, 1963). Morfologi anggrek *Dendrobium* disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Bunga Anggrek *Dendrobium*
(Foto Putri, diambil di Soerjanto Orchid, Batu, Jawa Timur, 2017)

B. Syarat Tumbuh Anggrek *Dendrobium*

Pertumbuhan dan perkembangan Anggrek *Dendrobium* dipengaruhi oleh 2 faktor yaitu biotik dan abiotik. Faktor abiotik meliputi suhu, sinar matahari kelembaban udara, media air dan hara. Pertumbuhan *Dendrobium* memerlukan suhu udara rata-rata 25°C-27°C dengan suhu udara minimum 21°C-23°C dan maksimum 31°C-34°C. Suhu siang sebaiknya 27°C-32°C dan suhu pada malam hari 21°C-24°C. Serupa dengan cara meningkatkan kelembaban, kenaikan suhu di siang hari bisa ditekan dengan penyiraman di lingkungan sekitar (Trubus, 2005).

Dendrobium membutuhkan intensitas cahaya dan lama penyinaran terbatas disebabkan sifatnya yang epifit. Besarnya intensitas cahaya yang dibutuhkan sekitar 1500-3000 *footcandle* (fc). Sebagai perbandingan, saat matahari terik di siang hari, kisaran intensitas cahaya matahari sekitar 7000-10000 fc. Oleh karena itu, *Dendrobium* membutuhkan naungan untuk mengurangi intensitas cahaya. *Dendrobium* dapat tumbuh di daerah pada ketinggian lebih dari 1000 meter di atas permukaan laut (Trubus, 2005).

Anggrek *Dendrobium* membutuhkan kelembaban sekitar 60%-85%. Fungsi dibutuhkannya kelembaban yang tinggi ini untuk menghindari penguapan yang terlalu besar (Widiastoety dan Farid, 1995). Pada malam hari kelembaban tidak boleh terlalu tinggi oleh sebab itu media di dalam pot tidak boleh terlalu basah sedangkan pada siang hari jika kelembaban rendah bisa diatasi dengan pemberian semprotan di sekitar tempat penanaman (Trubus, 2005).

C. Cekaman Kekeringan

Salah satu faktor penghambat dalam budidaya anggrek yaitu masalah kekeringan. Kondisi global warming menyebabkan terjadinya perubahan iklim sehingga berdampak pada perubahan musim. Musim kemarau yang berkepanjangan bisa disebabkan karena terjadinya perubahan iklim akibat global warming sehingga menurunkan ketersediaan air di dalam tanah dan memberikan dampak kekurangan air pada lahan pertanian (Nio Song dan Lenak., 2014). Usaha untuk mengatasi masalah kekurangan air selama ini dengan perbaikan sistem irigasi, namun usaha ini dirasakan terlalu banyak membutuhkan biaya dan tidak seimbang dengan peningkatan hasil yang diperoleh (Sloane dkk., 1990).

Cekaman kekeringan merupakan kondisi minimum air tanah yang berdampak pada pertumbuhan dan kondisi tanaman (Purwanto dan Agustono, 2010).

Cekaman kekeringan sangat berdampak pada proses metabolisme tanaman. Adaptasi tanaman terhadap kekeringan menyebabkan perubahan pada fisiologis, biokimia dan respon molekuler pada tanaman (Kalefetoglu dan Ekmekci, 2005). Tanaman dengan kondisi kekeringan maka pertumbuhannya akan terbatas (Jiang dan Huang, 2001). Menurut Karti (2004) berkurangnya suplai air pada tanaman akan menyebabkan penurunan turgor pada sel daun yang menyebabkan menurunnya luas daun hingga menutupnya stomata sehingga proses fotosintesis akan menurun.

Perubahan morfologis pada tanaman yang mengalami cekaman kekeringan dapat dilihat pada semakin memanjangnya akar untuk menyerap air,

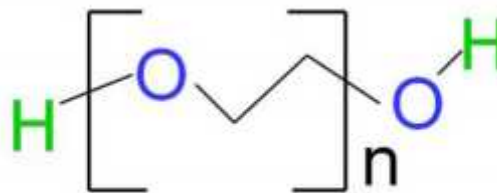
permukaan daun yang mengecil sehingga proses respirasi berkurang dan menggugurkan daunnya. Cekaman kekeringan dapat disebabkan oleh 2 faktor yaitu suplai air di perakaran sudah berkurang sehingga akar akan memanjang untuk mencari suplai air dan terjadinya evaporasi yang lebih tinggi dibandingkan proses absorpsi air tanah (Lapanjang, dkk., 2008). Respon yang paling sering dilakukan yaitu pada perkembangan selnya yang akan terhambat pembelahan dan perluasannya. Cekaman ditimbulkan karena kekeringan yang akan mengakibatkan tanaman merespon secara meluas yang dimulai dari ekspresi gen, metabolisme dan dalam pertumbuhannya (Darmawan dan Baharsjah, 1998).

D. *Poly Ethylene Glycol (PEG)*

Untuk menstimulasikan keadaan kekeringan di alam dapat digunakan *Poly Ethylene Glycol*, dikarenakan PEG dapat menstimulasikan keadaan *stress* dengan menurunkan potensial air yang ada di lingkungan sehingga berhubungan dengan penurunan tekanan hidrostatik dalam sel (Oertli, 1985). Sifat PEG yang larut dalam air dapat menyebabkan penurunan potensial air secara homogen. Potensial air dalam medium yang mengandung PEG dapat digunakan untuk meniru besarnya potensial air tanah (Sutjahjo dkk., 2007). Berat molekul dan konsentrasi PEG menentukan besarnya penurunan potensial air (Kaufmann dan Eckard, 1971).

Poly Ethylene Glycol (PEG) 6000 memiliki struktur padat, berwarna putih dan suhu leburnya 55-63°C dan berat molekulnya 6000-7000. Komposit

polimer karbon dari PEG 6000 yaitu 0,082 mho. PEG 6000 menunjukkan konduktivitas yang paling besar sebelum penambahan uap etanol 90% hasil komposit polimer karbon (Gunawan dan Azhari, 2010). Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam penggunaan PEG antara lain toksisitas, sifat PEG, kadar PEG optimal dan PEG yang terbaik. Penggunaan 41 % PEG 6000 bagi tumbuh-tumbuhan umumnya bersifat toksik (Suryowinoto, 1996). Penggunaan PEG 6000 lebih baik dan disarankan karena PEG dengan berat molekul lebih dari 4000 tidak akan terserap oleh sel tanaman (Lawyer, 1970). Struktur kimia PEG disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Kimia *Poly Ethylene Glycol*

E. Atonik

Di dalam teknik kultur jaringan, zat pengatur tumbuh sangatlah diperlukan sebagai komponen medium pertumbuhan dan diferensiasi sel. ZPT merupakan senyawa yang memiliki karakteristik sama seperti hormon tetapi diproduksi secara eksogen (Zulkarnain, 2009). Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik yang secara alami disintesis oleh tanaman tingkat tinggi yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Zat pengatur tumbuh pada kultur jaringan terdiri dari dua golongan,

yaitu golongan auksin dan sitokinin. ZPT ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan dan organ (Nurfadilah, 2013).

Atonik merupakan zat pengatur tumbuh dengan kandungan senyawa yang 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). Zat pengatur tumbuh berupa atonik termasuk ke dalam golongan auksin yang berbentuk cair yang dapat mempercepat proses perkecambahan, merangsang pertumbuhan akar tanaman, pengaktifan penyerapan unsur hara, mendorong pertumbuhan vegetatif serta meningkatkan keluarnya kuncup (Lingga, 1995).

Menurut Gardner dkk., (1991) respon tanaman terhadap auksin berhubungan dengan konsentrasi auksin yang diberikan dan tergantung dari kepekaan organ tanaman terhadap auksin. Respon batang terhadap auksin terbilang cukup besar sehingga pengaruh auksin dalam meningkatkan tinggi tanaman lebih terlihat nyata. Jika pemberian konsentrasi lebih tinggi dari konsentrasi optimum maka akan mendorong pertumbuhan atau dapat mengganggu metabolisme dan perkembangan tumbuhan. Hal ini disebabkan karena pada konsentrasi auksin yang tinggi, proses perbesaran sel dapat berlangsung cepat dan sel akan menjadi besar. Keadaan seperti ini akan menyebabkan reaksi turgor sel dalam sehingga permeabilitas terganggu dan sel akan mengalami kekeringan (Riyadi, 2014).

F. Kultur Jaringan *in vitro*

Kultur jaringan atau budidaya *in vitro* merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti, protoplasma, sel, jaringan, atau organ yang serba steril, ditumbuhkan pada media buatan yang steril, dalam botol yang steril, dan dalam kondisi yang aseptik dan lingkungan yang terkontrol, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap. Perbanyakan anggrek secara kultur jaringan dapat dibagi dalam tiga fase yaitu transformasi meristem ke dalam bentuk *Protocorm Like Bodies (PLBs)*, memisahkan *PLBs* ke bagian-bagian kecil dan menumbuhkan *PLBs* untuk menjadi tanaman sempurna (Pierik, 1987).

Kemampuan sel untuk berdiferensiasi disebut totipotensi. Ke arah mana sel-sel tanaman dapat diinduksi untuk mengekspresikan totipotensinya, sangat tergantung pada sejumlah variabel termasuk faktor eksplan, komposisi media, zat pengatur tumbuh, dan stimulus fisik seperti cahaya, suhu dan kelembaban. Setiap variabel dapat berbeda pengaruhnya terhadap setiap organ tanaman tertentu dan berdasarkan tujuan pengkulturan. Diantara faktor-faktor tersebut, lima variabel utama yang harus diperhatikan yaitu seleksi bahan tanam, teknik sterilisasi eksplan, komposisi medium dasar, keterlibatan zat pengatur tumbuh, serta faktor-faktor lingkungan di mana kultur ditempatkan (Zulkarnain, 2009).

Teknik kultur *in vitro* dapat digunakan untuk mengarahkan keragaman somaklonal atau induksi mutasi pada perubahan yang diinginkan. Seleksi

ketahanan suatu tanaman terhadap cekaman abiotik seperti kekeringan, keracunan Al, pH tanah rendah atau salinitas dapat digabungkan ke dalam medium kultur *in vitro* dan menghasilkan varian somaklonal. Tanaman hasil regenerasi jaringan pada kultur *in vitro* kemungkinan akan mempunyai turunan yang toleran terhadap seleksi yang dilakukan (Yunita, 2009).

Perbanyakan tanaman secara vegetatif dengan menggunakan teknik *in vitro* dapat meningkatkan keberhasilan, mempersingkat waktu, dan keseragaman tanaman yang tinggi (Kosmiatin dkk., 2005). Teknik kultur jaringan menekankan lingkungan yang cocok agar eksplan dapat tumbuh dan berkembang. Media kultur jaringan terdiri dari beberapa versi, salah satunya yaitu media Vacin dan Went. Media ini merupakan media yang ditemukan oleh Vacin dan Went pada tahun 1949. Media ini digunakan khusus untuk kultur jaringan Anggrek (Gunawan, 1992). Media ini media yang dianggap paling baik untuk kultur jaringan anggrek (Osman dan Prasasti, 1991).

Eksplan merupakan organ atau sepotong jaringan dari tumbuhan yang akan dikulturkan. Pemilihan eksplan yang tepat merupakan suatu keberhasilan dari teknik *in vitro*. Adab tiga aspek penting yang harus diperhatikan yaitu sumber karakteristik genetik dan epigenetik, bebas patogen, dan kondisi fisiologi tanaman yang dapat berinisiasi sendiri yang akan dikulturkan (Hartmann dkk., 2002). Keberhasilan kultur jaringan juga dipengaruhi oleh ukuran eksplan. Eksplan yang ukurannya terlalu besar resiko terkontaminasi lebih besar dibandingkan eksplan yang berukuran kecil, tetapi kemampuan hidupnya lebih besar dan tumbuhnya cepat. Sebaliknya, eksplan yang

berukuran lebih kecil kemungkinan terkontaminasi lebih kecil, tetapi tumbuhnya lebih lambat (Yusnita, 2003).

G. Biosintesis Klorofil

Fotosintesis merupakan proses terbentuknya senyawa organik berupa karbohidrat dan O_2 dari senyawa anorganik CO_2 dan H_2O dengan bantuan cahaya matahari. Klorofil merupakan faktor utama dalam proses fotosintesis (Song, 2011). Klorofil merupakan molekul yang kompleks dan berfungsi menyerap cahaya, mentransfer energi dan transfer elektron dalam proses fotosintesis (Taiz dan Zeiger, 1998).

Klorofil merupakan pigmen utama yang terdapat dalam kloroplas. Kloroplas berasal dari proplastida atau plastida yang masih belum dewasa, berukuran kecil dan hampir tidak berwarna. Pada tanaman tingkat tinggi, kloroplas berada dalam jaringan parenkim spons dan parenkim palisade (Salisbury dan Ross, 1991). Klorofil disintesis oleh daun, dalam prosesnya terdapat beberapa faktor yaitu gula, cahaya, air, karbohidrat dan unsur-unsur (N, Fe, Mg, Mn, Cu, Zn, S, dan oksigen) (Hendriyani dan Nantya, 2009). Klorofil pada tanaman terdapat 2 macam yaitu klorofil a ($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$) berwarna hijau tua dan klorofil b ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$) berwarna hijau muda. Panjang gelombang yang diserap klorofil a dan klorofil b paling besar yaitu 600-700 nm yang merupakan cahaya berwarna merah. Cahaya yang paling sedikit untuk diserap yaitu cahaya berwarna hijau dengan panjang gelombang 500-600 nm, kemudian cahaya biru akan diserap oleh karotenoid (Song, 2011).

Klorofil memiliki keterkaitan terhadap cekaman kekeringan sebagai respon fisiologis suatu tumbuhan, dengan adanya pengaruh kekeringan maka konsentrasi klorofil daun akan menurun yang disebabkan oleh dihambatnya pembentukan klorofil dan terhambatnya penyerapan unsur hara terutama nitrogen dan magnesium yang berperan penting dalam sintesis klorofil (Nio Song dan Banyo, 2011). Jika suatu tanaman kekurangan air, maka akan mempengaruhi reaksi-reaksi biokimia dalam proses fotosintesis sehingga menurunnya laju fotosintesis (Fitter dan Hay, 1994). Tersedianya air yang kurang juga akan menghambat sintesis klorofil pada daun yang diakibatkan laju fotosintesis menurun (Hendriyani dan Setiari, 2009).

H. Karbohidrat

Perubahan karbohidrat menjadi bentuk tertentu sangat penting karena adanya hubungan secara langsung dengan proses fisiologis seperti fotosintesis. Karbohidrat terlarut terdapat berbagai macam yaitu sukrosa, glukosa dan fruktan. Kandungan karbohidrat terlarut total dapat dijadikan sebagai indikator dalam analisis terhadap cekaman kekeringan. Efek dari tekanan osmotik pada cekaman kekeringan yang dapat dilihat pada bagian batang, daun dan akar. Bagian yang sering digunakan untuk mengukur kandungan karbohidrat yaitu pada bagian batang karena batang merupakan organ yang mengandung banyak konsentrasi gula dan menunjukkan karakterisasi perubahan genotip pada kondisi tercekam (Kerepesi dan Galiba, 2000).

Untuk menganalisis kandungan karbohidrat dapat digunakan beberapa metode. Metode fenol-sulfur merupakan metode termudah dan akurat untuk pengukuran gula murni pada oligosakarida, proteoglikan, glikoprotein dan glikolipid. Dengan adanya kandungan karbohidrat terlarut total maka akan membantu tanaman untuk bertahan hidup dalam kondisi cekaman kekeringan (Masuko dkk., 2005). Suatu tanaman dalam kondisi cekaman kekeringan akan meningkatkan kandungan karbohidrat terlarut total (Mafakheri dkk., 2010).

I. Stomata

Stomata merupakan celah pada epidermis yang dibatasi oleh sel penutup. Pelebaran dan penyebaran celah diatur oleh sel penutup. Stomata dikelilingi oleh sel yang disebut sel tetangga yang berfungsi dalam perubahan osmotik yang menyebabkan gerakan sel penutup dalam mengatur lebar celah (Hidayat, 1995). Stomata berperan dalam proses fotosintesis dan proses respirasi. Menurut Pharmawati dkk (2008) stomata berperan sebagai tempat pertukaran gas dan air antara atmosfer dengan sistim ruang antar sel yang terdapat pada jaringan mesofil di bawah jaringan epidermis.

Menurut Lestari (2006) stomata mempunyai peran penting sebagai alat dalam adaptasi somaklon yang tahan kekeringan, kerapatan stomata dapat mempengaruhi fotosintesis dan transpirasi pada tanaman. Stomata juga berperan dalam mengatur keluar masuknya air pada daun sehingga stomata

dijadikan indikator untuk mengukur ketahanan tanaman pada kondisi cekaman kekeringan

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan November 2017 sampai dengan bulan Desember 2017 di ruang *in vitro*, Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Lampung

B. Alat dan Bahan

1. Alat-alat

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf alat pemanas tertutup yang digunakan sebagai alat sterilisasi benda menggunakan uap bersuhu 121°C dan bertekanan tinggi 1 atm, Laminar Air Flow Cabinet (LAF) meja kerja steril untuk melakukan kegiatan inokulasi atau penanaman, pinset, scalpel, mata pisau scalpel alat pemotong eksplan, kertas filter, Ernlennmeyer berukuran 50 ml, cawan petri, corong, botol kultur 250ml, 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, waterbatt untuk penangan air, alumunium foil dan kamera.

2. Bahan-bahan

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah planlet anggrek *Dendrobium*, alkohol 70% untuk sterilisasi alat, akuades, larutan atonik, *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000, reagen biuret, albumin, bahan dasar Vacin and Went 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 yang digunakan untuk sterilisasi eksplan.

C. Rancangan Percobaan

Penelitian dilakukan 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 (A1), 2 ml/l (A2) dan 3 ml/l (A3) dan faktor B: Konsentrasi *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 yang terdiri atas 3 perlakuan yaitu 0% (B1), 20% (B2), dan 25 % (B3). Masing-masing konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan dan setiap ulangan terdiri dari 3 planlet anggrek *Dendrobium* dalam setiap botol kultur. Notasi faktor dan 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	A1	A2	A3
B1		A1B1	A2B1	A3B1
B2		A1B2	A2B2	A3B2
B3		A1B3	A2B3	A3B3

Keterangan:

- A1B1 : Larutan Atonik 0 ml/l, PEG 6000 0%
- A1B2 : Larutan Atonik 0 ml/l, PEG 6000 20%
- A1B3 : Larutan Atonik 0 ml/l, PEG 6000 25%
- A2B1 : Larutan Atonik 2 ml/l, PEG 6000 0%
- A2B2 : Larutan Atonik 2 ml/l, PEG 6000 20%
- A2B3 : Larutan Atonik 2 ml/l, PEG 6000 25%
- A3B1 : Larutan Atonik 3 ml/l, PEG 6000 0%
- A3B2 : Larutan Atonik 3 ml/l, PEG 6000 20%
- A3B3 : Larutan Atonik 3 ml/l, PEG 6000 25%

Tabel 2. Tata letak suatu percobaan

A1B3U1	A3B1U2	A3B2U1
A1B2U3	A1B1U1	A1B2U2
A3B1U3	A2B3U1	A3B2U2
A1B1U3	A2B3U3	A2B2U1
A3B3U2	A2B2U2	A2B1U3
A1B3U2	A1B3U3	A1B2U1
A2B2U3	A3B3U3	A3B2U3
A2B3U2	A3B1U1	A2B1U1
A1B1U2	A2B1U2	A3B3U1

Keterangan :

A1-A3 : Konsentrasi Atonik

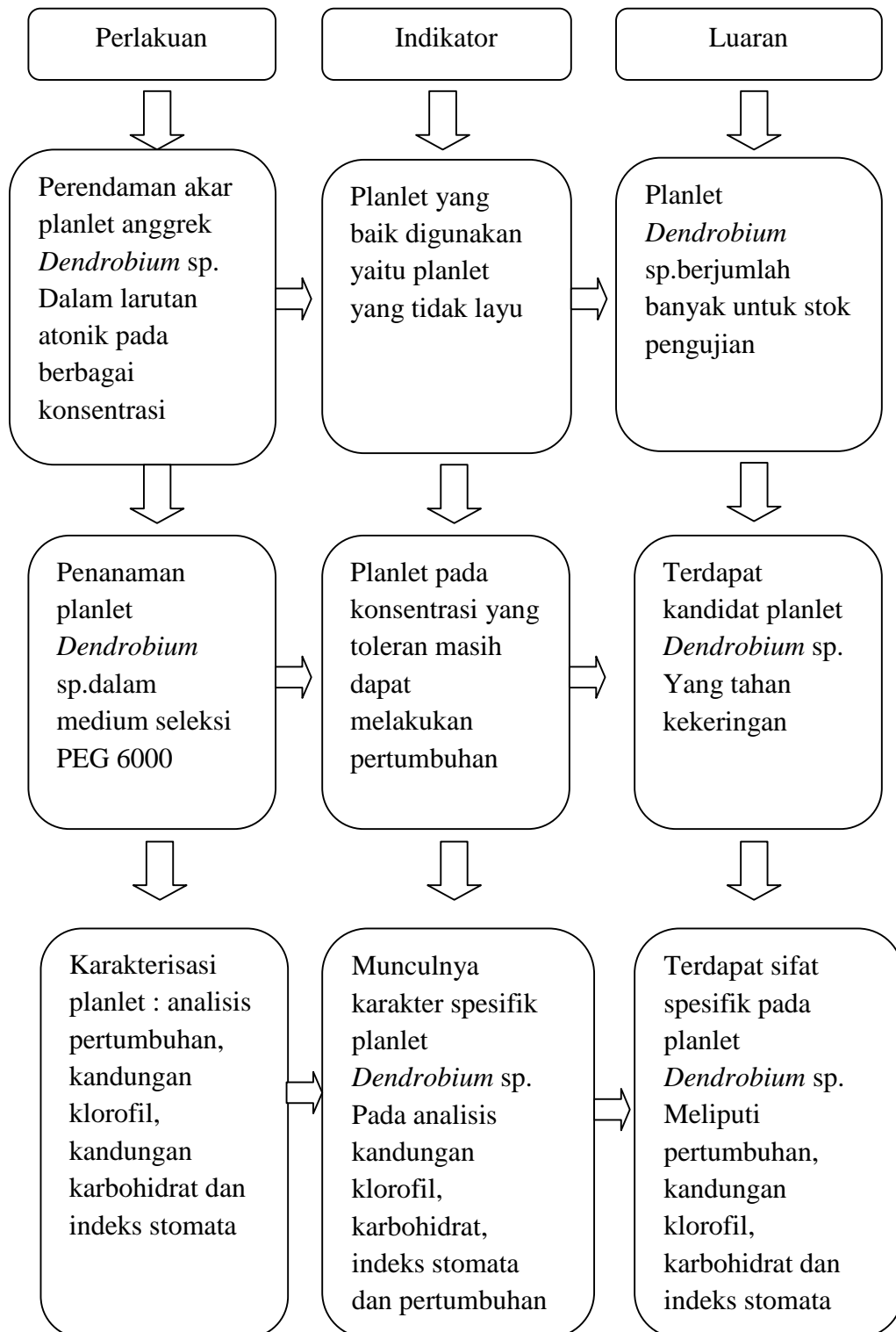
B1-B3 : Konsentrasi PEG 6000

U1-U3: Ulangan 1-3

D. Bagan Alir Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, yaitu : 1) menentukan kisaran konsentrasi larutan atonik untuk perendaman planlet *Dendrobium* sebelum penanaman pada medium, 2) Penanaman planlet *Dendrobium* pada medium Vacin dan Went yang telah ditambahkan PEG 6000 sesuai konsentrasi, 3) Penentuan kisaran konsentrasi PEG 6000 toleran untuk seleksi planlet *Dendrobium* secara in vitro, 4) Analisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet *Dendrobium* resisten cekaman kekeringan meliputi analisis kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total, analisis kandungan karbohidrat, indeks stomata, persentase jumlah planlet yang hidup, dan visualisasi planlet. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 3 minggu.

Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir yang tercantum pada Gambar 3.



Gambar 3. Bagar Alir Penelitian

E. Pelaksanaan Penelitian

Adapun langkah dalam pelaksanaan penelitian sebagai berikut:

1. Sterilisasi alat

Alat-alat gelas dan alat-alat disetting set yang meliputi (scalpel, mata scalpel, pinset) dicuci dengan menggunakan detergen kemudian dibilas dengan air mengalir lalu disterilisasi dengan autoklaf. Alat-alat dari bahan gelas dibungkus dengan plastik sedangkan alat-alat logam dan cawan petri dibungkus dengan kertas hvs kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 30 menit.

2. Persiapan Medium Tanam

Medium yang digunakan pada penelitian ini adalah media Vacin dan Went (VW) padat. Pembuatan media VW sebanyak 1 liter adalah dengan cara memipet sejumlah larutan stok kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 1 liter. Akuades dimasukkan ke dalam labu takar sampai tanda 1 liter dan diatur pH sampai 5,5 dengan penambahan NaOH 1N atau HCl 1N. Larutan tersebut kemudian dipindahkan ke dalam wadah yang lebih besar lalu ditambahkan agar-agar 7g/l, sukrosa 30 g/l, dan PPM 0,5 ml/l. Larutan medium dipanaskan untuk melarutkan agar-agar, selanjutnya medium dipanaskan sampai mendidih dan diaduk. ZPT ditambahkan ketika larutan medium sudah diangkat lalu medium dituangkan ke dalam botol sebanyak 36 botol sebanyak 20 ml/botol. Kemudian sterilisasi medium menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5 psi, suhu 121°C selama 15 menit.

3. Persiapan medium seleksi

Media Vacin and Went padat ditambahkan dengan larutan PEG sesuai dengan konsentrasi yaitu 0%, 20% dan 25%. Sebelum digunakan, *Poly Ethylene Glycol* (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 *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 ditambahkan ke dalam medium VW. Sebelum digunakan, medium diinkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar (25 °C) untuk memastikan bahwa *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 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 μm sebanyak 2 kali, dilanjutkan filter berdiameter 0,22 μm satu kali.

Penyaringan dilakukan dalam ruang steril di dalam LAF Cabinet . kemudian larutan atonik diencerkan dengan 3 konsentrasi yaitu 0 ml/l, 2 ml/l, 3 ml/l dan selanjutnya dilakukan perendaman akar planlet *Dendrobium* selama 10 menit.

5. Penanaman Eksplan

Planlet anggrek *Dendrobium* yang telah diinduksi larutan atonik ditanam pada masing-masing botol kultur yang berisi media Vacin and Went yang

telah mengandung *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali dengan dan setiap ulangan terdiri dari 3 eksplan dalam setiap botol kultur. Kemudian diinkubasi pada ruangan dengan penyiaran ± 1000 lux, 24 jam/hari dan suhu $\pm 20^{\circ}\text{C}$.

6. Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada akhir minggu ke-3 untuk mengetahui karakterisasi planlet anggrek *Dendrobium* meliputi parameter sebagai berikut :

a. Persentase jumlah planlet yang hidup

Perhitungan jumlah planlet hidup *Dendrobium* dengan menggunakan rumus menurut Nurcahyani dkk. (2014)

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

b. Visualisasi Planlet

Meliputi warna planlet setelah diberikan perlakuan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 dan larutan atonik dengan klasifikasi sebagai berikut: hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna coklat dan coklat.

c. Analisis kandungan klorofil

Bahan yang digunakan untuk analisis klorofil yaitu daun planlet anggrek *Dendrobium* yang telah diinduksi atonik dan diseleksi dengan

PEG 6000, menggunakan metode Miazek (2002) dengan spektrofotometer. Daun planlet *Dendrobium* yang seragam sebanyak 0,1 gram dihilangkan ibu tulang daunnya, kemudian digerus 100% dengan mortar (pestle) dan ditambahkan 10 ml ethanol 96%. Larutan disaring dengan kertas *Whatman* No. 1 dan dimasukkan ke dalam flakon lalu ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar (ethanol 96%) diambil sebanyak 1 mL, dimasukkan dalam kuvet. Setelah itu dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang () 649 nm dan 665 nm, dengan tiga kali ulangan setiap sampel. Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Chla} = 13.36 A_{665} - 5.19 A_{649} \left(\frac{V}{W \times 1000} \right)$$

$$\text{Chlb} = 27.43 A_{649} - 8.12 A_{665} \left(\frac{V}{W \times 1000} \right)$$

$$\text{Chltotal} = 22.24 A_{649} - 5.24 A_{665} \left(\frac{V}{W \times 1000} \right)$$

Keterangan :

Chla = klorofil a

Chlb = klorofil b

Chltotal = klorofil total

A_{665} = absorbansi pada panjang gelombang 665 nm

A_{649} = absorbansi pada panjang gelombang 649 nm

V = volume etanol

W = berat daun

d. Analisis kandungan karbohidrat terlarut total

Analisis kandungan karbohidrat terlarut total dilakukan dengan metode fenol-sulfur (Dubois, 1956). Planlet anggrek *Dendrobium* diambil dan ditimbang sebanyak 0,1 gram. Kemudian ditumbuk dengan mortar lalu diberi 10 ml akuades, disaring dengan kertas saring *Whatman* no. 1 lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi. Selanjutnya filtrat diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan 1 ml H₂SO₄, kemudian ditambahkan fenol sebanyak 2 ml. Selanjutnya filtrat dimasukkan ke dalam kuvet dan dibaca pada panjang gelombang 490 nm.

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

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

e. Indeks Stomata

Pembuatan preparat stomata dengan metode dari Ruzin (1999) sebagai berikut.

Dibuat potongan-potongan segi empat dari daun planlet *Dendrobium* dengan sisi ± 5 mm dan dimasukkan ke dalam tabung berisi larutan kloralhidrat dalam air (5:1). Tabung dipanasi dalam waterbath selama \pm

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 3 bagian daerah yang berlainan. Tiap sel epidermis (E) ditandai dengan (x), tiap stoma (S) ditandai dengan (O). Indeks stomata besarnya dihitung dengan rumus:

$$IS = \frac{S}{E+S} \times 100.$$

7. Analisis Data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet *Dendrobium* selama seleksi dengan *Poly Etyhlene Glycol* (PEG) 6000 berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dengan foto. Data kuantitatif dari setiap parameter dianalisis dengan menggunakan Homogenitas Ragam dengan Uji Levene pada taraf nyata 5% dan Analisis ragam dilakukan pada taraf nyata 5% dan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Kisaran konsentrasi atonik yang optimum untuk seleksi planlet anggrek *Dendrobium* dalam kondisi cekaman kekeringan secara in vitro adalah 0 ml/l - 2 ml/l
2. Kisaran konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk seleksi planlet anggrek *Dendrobium* secara in vitro adalah 20% dan 25%
3. Terdapat interaksi antara PEG 6000 25% dan atonik 0 ml/l yang dapat meningkatkan kandungan klorofil a, b dan total. Terdapat interaksi antara PEG 6000 20% dan atonik 2 ml/l yang dapat meningkatkan indeks stomata. Kombinasi perlakuan PEG 25% dan atonik 2 ml/l dapat meningkatkan kandungan karbohidrat
4. Terdapat karakter ekspresi yang spesifik pada planlet anggrek *Dendrobium* yang mengalami cekaman kekeringan meliputi
 - a. Kandungan klorofil a,b dan total planlet anggrek *Dendrobium* dengan perlakuan kombinasi atonik dan PEG 6000 mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi PEG dan sebaliknya mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya konsentrasi larutan atonik.

- b. Kandungan karbohidrat planlet anggrek *Dendrobium* dengan perlakuan kombinasi atonik dan PEG 6000 mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi PEG 6000
- c. Indeks stomata planlet anggrek *Dendrobium* dengan perlakuan kombinasi atonik dan PEG 6000 mengalami penurunan dengan meningkatnya konsentrasi atonik.

B. Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan untuk mendapatkan planlet anggrek *Dendrobium* yang toleran terhadap kekeringan dengan meningkatkan konsentrasi *Polyethylene Glycol* serta analisis karakterisasi lainnya seperti analisis kandungan prolin, gula pereduksi, kandungan fenol dan antioksidan serta analisis molekular.

DAFTAR PUSTAKA

- Afanhdie R dan N.W Yuwono. 2007. *Ilmu Kesuburan Tanah*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Arditti, J. 1992. *Fundamental of Orchid Biology*. John Wiley & Son, Inc. New York.
- Agustina, Reni., Zulkifli., T.T Handayani. 2015. Adaptasi Kecambah Padi Sawah (*Oryza sativa* L.) Varietas Ciherang dan Ciliwung terhadap Defisit Air yang Diinduksi Dengan Polietilen Glikol 6000. *Prosiding Seminar Nasional Swasembada Pangan Polinela 29 April 2015*. Hlm: 51.
- Aryulina, D., Muslim, C., Manaf S dan Winarni, E.W. 2006. *Biologi 2*. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- 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.
- Banyo, Y.E., Song, N., Siahaan, P dan Tangapo, A.M. 2013. Konsentrasi Klorofil Daun Padi pada Saat Kekurangan Air yang Diinduksi dengan Polietilen Glikol. *Jurnal Ilmiah Sains* 13(1): 1-8.
- Bose, T.K. dan Battcharjdd. 1980. *Orchids of India*. Naya Prakash. Calcuta.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., dan Mitchell, L.G. 2002. *Biologi*. Jilid 1. Edisi Kelima. Alih Bahasa: Wasmen. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York.
- Clemants, S. 2004. *The Best Orchid for Indoors*. Brooklyn Botanic Garden, Inc. Washington.
- Darmawan, Januar dan S. J. Baharsjah. 1998. *Dasar-Dasar Fisiologi Tanaman*. SITC. Jakarta.
- Darmono, D. W. 2004. *Menghasilkan Anggrek Silangan*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.

- Dubois, M., Gille, KA, Hamilton, JK, Rebers PA dan Smith, F. 1956. Colometri method for Determination of Sugars and Related Substance. *Anal. Biochem* 28(1956): 143-145.
- Fitter, A.H. dan R.K.M. Hay. 1994. *Fisiologi Lingkungan Tanaman*. Diterjemahkan oleh: Sri Andani dan E.D. Purbayanti. Gadjah Mada University Press. 421 Hal.
- Gandawidjaya, D. dan S. Sastrapradja. 1980. Plasma Nutfah Dendrobium Asal Indonesia. *Bull. Kebun Raya* 4(4): 113-125.
- Gardner, F.P., R.B. Pearce, dan Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. UI Press. Jakarta.
- Gati, E., I. Mariska dan D. Seswita, 1993. *Daya Regenerasi Tanaman Piretrum Setelah Penyimpanan Melalui Kultur Jaringan*. Prosiding Hasil Penelitian dalam Rangka Pemanfaatan Pestisida Nabati. Bogor: 126– 131.
- Gunawan, L. W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 165 hal.
- Gunawan, L.W. 2002. *Budidaya Anggrek*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- 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 J.B. 1987. *Metode Fitokimia dan Penurunan cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh : Padmawinata, K dan Joediro, I. Cetakan ke 2. Penerbit ITB. Bandung, hal : 234-244.
- Hartati, Sri. 2010. Pengaruh Macam Ekstrak Bahan Organik dan ZPT Terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Hasil Persilangan Pada Media Kultur. *Caraka Tani*. XXV No. 1. Hlm: 102-105.
- Hartmann, H.T., D.E. Kester, F.T. Davies, Jr, dan 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.
- Hidayat, E.B. 1995. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. Penerbit ITB. Bandung.
- Hendaryono, D.P.S. 2000. *Budidaya Aggrek Dalam Botol*. Kanisius Yogyakarta.
- Hendriyani, I. S. dan Nantya, S. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. *Jurnal Sainsdan Matematika*. 17 (3).

- Hendriyani I. S dan N. Setiari. 2009. Kandungan Klorofil Dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) Pada Tingkat Penyediaan Air Yang Berbeda. *J. Sains & Mat. Vol. 17 No. 3, Hal 150*
- Indarto, Novo. 2011. *Pesona Anggrek: Petunjuk Praktis Budi Daya dan Bisnis Anggrek*. Cahaya Atma Pustaka. Yogyakarta.
- Istiqomah, A.R., Widya, M., dan Endang, A. 2010. Pertumbuhan dan Struktur Anatomis Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L) Lamk.) Pada Ketersediaan Air dan Intensitas Cahaya Berbeda. *Jurnal Ekosains. Vol II No. 1. Hlm: 61.*
- Jamil, Muhammad Sobran. 2015. Seleksi *In Vitro* Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews). Resisten Terhadap Cekaman Kekeringan dengan *Poly Ethylene Glicol* (PEG) 6000. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung
- Jiang Y dan B. Huang. 2001. Physiological Responses to Heat Stress Alone or in Combination with Drought: A Comparison between Tall Fescue and Perennial Ryegrass. *HORTSCIENCE. 36(4):682–686.*
- Kalefetoglu T dan Y. Ekmekci. 2005. The Effects Of Drought On Plants And Tolerance Mechanisms. *G.U. Journal of Science. 18(4): 723-740*
- Karti, P.D.M.H. 2004. Pengaruh Pemberian Cendawan Mikoriza Arbuskula Terhadap Pertumbuhan Dan Produksi Rumput *Setaria splendida* Stapf. Yang Mengalami Cekaman Kekeringan. *ISSN 0126-0472. Vol. 27 N0. 2 hlm. 63-68*
- Kaufmann, M.R., dan A.N. Eckard. 1971. Evaluation of Water Stress Control with Polyethylene Glycol. *Science. 133:1486- 1487.*
- Kerepesi, I dan Galiba, G. 2000. Osmotic and Salt Stress-Induced Alteration in Soluble Carbohydrate Content in Wheat Seedlings. *Crop Science 40(2000): 482-487.*
- Keyvan, S. 2010. The Effect 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.*
- Kholova, J. Hash, C.T., Kakkera, Kocova AM dan Vadez V. 2010. Constitutive water-conserving Mechanisms Are Correlated with The Terminal Drought Tolerance of Pearl Miller. *Journal of Experimental Botany 61(2): 369-377.*
- Kosmiatin, M., Husni, A dan Mariska, I. 2005. Perkecambahan dan Perbanyakan Gaharu Secara *In Vitro*. *Jurnal AgroBiogen 1(2): 62-67.*

- Kumar, K. and I.U. Rao. 2012. Morphophysiological Problems in Acclimatization of Micropropagated Plants in Ex Vitro Conditions. *Journal of Ornamental and Horticultural Plants* 2(4): 271-283.
- Lakitan, B. 2013. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Rajawali Press. Jakarta. 35-62.
- 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.
- Latif, S.M. 1960. *Bunga Anggrek Permata Belantara Indonesia*. PT. Sumur. Bandung.
- Lawyer, D.W. 1970. *Absorption of polyethylene glycol by plants enther effect on plant growth*. New Physiol.
- Lestari, E.G., D. Sukmadjaja, dan Mariska, I. 2006. Perbaikan Ketahanan Tanaman Panili Terhadap Penyakit Layu Melalui Kultur *In Vitro*. *Jurnal Litbang Pertanian*. 25(4):149-153.
- Li, R.P.G., M. Baum, S. Grando dan S. Ceccarelli. 2006. Evaluation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Barley. *Agricultural Sciences in China*. 5 (10): p.751-757.
- Lingga, P. 1995. *Hidroponik Bercocok Tanam Tanpa Tanah*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Mafakheri A., Siosemardeh A., Bahramnejad B., Struik PC., dan Sohrabi Y. 2010. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Aust J Crop Sci*. Vol 4, pp :580-585.
- Masuko, T., Minami, A., Norimasa, I, Majima, Tokifumi., Nishimura, S dan Lee, Y. 2005. Carbohydrate Analysis by a Phenol-Sulfuric Acid Method in Microplate Format. *Anal. Biochem.* 339 (2005) 69-72.
- Miazek, Mgr Inz. 2002. *Chlorophyll Extraktion From Harvested Plant Material*. Supervisor: Prof. Dr. Ha. Inz Stanislaw Ledakowicz.
- Mulyani, S. 2006. *Anatomi Tumbuhan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Nio Song dan Banyo, Y. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*. 11 (2).
- Nio Song A dan A. A. Lenak. 2014. Penggulungan Daun Pada Tanaman Monokotil Saat Kekurangan Air. *Jurnal Bioslogos*, Agustus 2014, Vol 4 No.2.

- Nurchayani E, B. Hadisutrisno, I Sumardi, dan Suharyanto. 2014. Idenatifikasi Galur Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Resisten terhadap Infeksi *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Vanillae* hasil seleksi in vitro dengan Asam Fusarat. Prosiding Seminar Nasional: “Pengendalian Penyakit pada Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan”. *Perhimpunan Fitopatologi Indonesia Komda Joglosemar-Fakultas Pertanian UGM*. ISBN 978-602-71784-0-3./2014 Hal. 272-279.
- Nurfadilah. 2013. *Uji Bioaktifitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Lamun dari Kepulauan Spermonde*. Kota Makassar. Skripsi, FKIP, Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Oertli, J J.1985. The response of Plant Cells to Different Forms of Moisture stress. *Jurnal of Plant Physiology* Vol 121, pp : 295–300.
- Oliveira, L. V. R. dan R. T. de Faria. 2005. In Vitro Propagation of Brazilian Orchids Using Tradisional Culture Media and Commercial Fertilizers Formulations. *Acta Scientiarum, Agronomy Maringa*. 27(1):1-5.
- Osman dan Prasasti. 1991. *Anggrek Dendrobium*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Pharmawati M, M.R. Defiani, dan N.L. Arpiwi. 2008. Ca²⁺ Intraseluler Terlibat dalam Mekanisme Pembukaan Stomata akibat Pengaruh Auxin. *Jurnal Biologi Volume XII No.1*
- Paul, M. 1964. *Orchids Care and Growth*. Universe Book Inc. New York. 135 hal.
- Pierik, R.I.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhoff Publisher. Netherland.
- Purwanto dan T. Agustono. 2010. Kajian Fisiologi Tanaman Kedelai Pada Berbagai Kepadatan Gulma Teki dalam Kondisi Cekaman Kekeringan. *J. Agroland*. 17 (2) : 85 – 90
- Riyadi, I. 2014. *Media Tumbuh : Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh dan Bahanbahan Lain*. Materi disampaikan pada Pelatihan Kultur Jaringan Tanaman Perkebunan. BPBPI Bogor 19 – 23 Mei 2014.
- Rompas, Y., Henny L Rampe., Marheanus J Rumondor. 2011. *Struktur Sel Epidermis dan Stomata Daun Beberapa Tumbuhan Suku Orchidaceae*. Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Ruzin S.E. 1999. *Plant Microtechnique and Microscopy*. Oxford University Press. New York.
- Salisbury F.B dan W.C. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 1. ITB. Bandung.

- Salisbury F.B dan W.C. Ross. 1991. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 2. ITB, Bandung
- Sandra, E. 2005. *Membuat Anggrek Rajin Berbunga*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 85 hal.
- Sarwono, B. 2002. *Mengenal dan Membuat Anggrek Hibrida*. Agro Media Pustaka. Depok.
- Sastrapadja, S., D. Gandawidjaja, M. Imelda dan R. E. Nasution. 1976. *Anggrek Indonesia*. PN. Balai Pustaka. Jakarta.
- Sasmitamihardja, D. 1990. *Penuntun Praktikum Fisiologi Tumbuhan*. ITB, Bandung.
- Septiatin, A. 2008. *Apotik Hidup dan Rempah-Rempah, Tanaman Hias, dan Tanaman Liar*. Yrama Widya. Bandung.
- Sitinjak, Rama R. 2015. Pengaruh Atonik Terhadap Pertumbuhan Stek Pucuk Tumbuhan Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Pro-Life*. Nomor 1
- Sitompul, S.M dan B. Guritno. 1995. *Analisis Pertumbuhan Tanaman*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sloane RJ, Patterson RP, dan Carter TE. 1990. Field drought tolerance of soybean plant introduction. *Crop Sci* 30:118-123
- Soeryowinoto, S. M. 1988. *Mengenal Anggrek Alam Indonesia*. Penerbitan Penebar Swadaya. Jakarta.
- Song, N. 2011. Biomassa Dan Kandungan Klorofil Total Daun Jahe (*Zingiber officinale* L.) Yang Mengalami Cekaman Kekeringan. *Jurnal Ilmiah Sains* 11(1): 1-4.
- Sumiati, E. 2001. Pengaruh Pemberian Zat Pengatur Tumbuh terhadap Hasil, Kualitas dan Umur Simpan Buah Tomat Kultivar Gondol. *Jurnal Hortikultura*. 11: 30-39
- 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
- Suryowinoto M. 1996. *Pemuliaan Tanaman secara In Vitro*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. Hlm.189-190.
- Taiz L dan E. Zieger. 1998. *Plant Plant Physiology 2nd ed*. Sinaeur Associates, Inc. Pub. Sunderland

- 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 1997-0838.
- Trubus. 2005. *Anggrek Dendrobium Vol 01*. PT Trubus Swadaya. Jakarta. 218 hal.
- Warren, W. dan L. I. Tettoni. 1996. *Tropical Flowers of Southeast Asia*. Periplu Edition. Singapore. 64p.
- Widiastoety, D. dan A.B. Farid. 1995. *Perkembangan Teknologi Anggrek*. *Pesona Anggrek*. 25
- William, B. 1984. *Orchids for Everyone*. Treasure Press. London.
- Williams, B. 1989. *Orchid for Everyone*. Gallery Book Inc. New York.
- Yusnita, 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Zhu XC, Song FB, Liu SQ, Liu TD dan Zhou X. 2012. Arbuscular mycorrhizae improves photosynthesis and water status of *Zea mays L.* under drought stress. *Plant Soil Environ.* **58(4)**, 186-191.
- Zulkarnain, 2009. *Kultur Jaringan Tanaman: Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Bumi Aksara. Jakarta.