KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK CATTLEYA (*Cattleya* sp.) SETELAH DIINDUKSI LARUTAN ATONIK DALAM KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN SECARA*IN VITRO*

(Skripsi)

Oleh

Tara Sesafia Paletri

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2018

ABSTRAK

KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK CATTLEYA (*Cattleya* sp.) SETELAH DIINDUKSI LARUTAN ATONIK DALAM CEKAMAN KEKERINGAN SECARA *IN VITRO*

Oleh

Tara Sesafia Paletri

Anggrek Cattleya (*Cattleya* sp.) merupakan tanaman hias yang banyak digemari masyarakat karena memiliki bentuk dan warna bunga yang indah, selain itu memiliki nilai ekonomi yang tinggi.Kendala dalam pembudidayaan Cattleyaadalah kelembaban yang rendah dan ketersediaan air yang kurang.Penambahaan zat pengatur tumbuh atonik dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman.Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui konsentrasi PEG yang dapat ditoleran dan konsentrasi atonik yang optimum untuk pertumbuhan planlet anggrek Cattleya yang tumbuh dalam kondisi cekaman kekeringan, dan karakter spesifik anggrek cattleya yang diamati meliputi kandungan klorofil, indeks stomata, dan kandungan karbohidrat. Penelitian ini dilakukan secara faktorial dengan Rancangan Acak Lengkap (RALF) yang terdiri dari 2 faktor, yaitu larutan atonik dengan 3 taraf: 0 mL/L, 2 mL/L, 3 mL/L serta PEG 6000 dengan 3 taraf: 0%, 20%, 25%, dengan 3 kali ulangan. Homogenitas ragam diuji menggunakan uji Levene dilanjutkan dengan analisis ragam pada taraf nyata 5% dan uji lanjut BNT pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi PEG 6000 20% dan 25% masih dapat ditolerir oleh planlet anggrek Cattleya, sedangkan konsentrasi larutan atonik yang optimum untuk pertumbuhan anggrek Cattleya adalah 2 mL/L. Karakter ekspresi planlet anggrek Cattleya yang diperoleh adalah, semakin tinggi konsentrasi PEG 6000 maka kandungan klorofil a, b, total serta indeks stomata mengalami penurunan, sedangkan kandungan karbohidrat terlarut total meningkat.

Kata kunci :*Cattleya* sp. Lindl, *Poly Ethylene Glycol* 6000, Atonik, *in vitro*.

KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK CATTLEYA (*Cattleya* sp.) SETELAH DIINDUKSI LARUTAN ATONIK DALAM KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN SECARA *IN VITRO*

Oleh

Tara Sesafia Paletri

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh 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	:	**KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK CATTLEYA (*Cattleya* sp.) SETELAH DIINDUKSI LARUTAN ATONIK DALAM KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN SECARA *IN VITRO***
Nama Mahasiswa	:	Tara Sesafia Paletri
No. Pokok Mahasiswa	:	1417021116
Jurusan	:	Biologi
Fakultas	:	Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.	**Dra. Yulianty, M.Si.**
NIP 19651031 199203 2 003	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. Yulianty, M.Si.** .....

   Penguji
   Bukan Pembimbing : **Rochmah Agustrina, Ph.D.** .....

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 : **16 April 2018**

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 10 Juli 1996, merupakan putri keempat dari empat bersaudara, dari pasangan Bapak Jacob Sofyan (alm) dan Ibu Remilia.Mempunyai 3 orang kakak yang bernama Freddy Yaso Paletra, Marshel Reli Paletra, dan Tisa Septalia Paletri.

Penulis menempuh pendidikan Taman Kanak-kanak pada tahun 2001-2002 di TK Pertiwi Bandar Lampung, pendidikan dasar pada tahun 2002-2003 di SDN 2 Rawa Laut Bandar Lampung, namun penulis memutuskan untuk pindah sekolah karena mengikuti orang tua yakni di SDN Klampis Ngasem 1 Surabaya dan menyelesaikannya tahun 2008.Pendidikan tingkat menengah hingga tahun 2011 di SMP Islam Al-Azhar 13 Surabaya.Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMA 3 Bandar Lampung dan menyelesaikannya tahun 2014. Pada tahun yang sama, penulis berhasil diterima sebagai mahasiswa Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menempuh pendidikan di kampus penulis pernah menjadi asisten praktikum di beberapa mata kuliah, selain itu penulis juga aktif di dunia organisasi kampus yaitu Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota kaderisasi. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Lampung Tengah Kecamatan Way Seputih dari bulan Januari – Maret 2017.Pada bulan Juli – Agustus 2017, Penulis melaksanakan Kerja Praktik di Pusat PembibitanAnggrek Soerjanto Orchids, Batu, Jawa Timur.

PERSEMBAHAN

Segala puji hanya milik ALLAH SWT. Dzat yang maha agung yang memberikan kenikmatan sehingga karya ini dapat terselesaikan dengan mengharap ridho dari Allah SWT maka karya ini ku persembahkan kepada :

Alm. Papa dan mama yang selalu kusayangi, yang telah memberikan kasih sayang, doa yang tiada hentinya, memberikan dukungan moril dan materil, menjadi teladan yang baik bagi pribadi ini, serta menjadi pengajar sepanjang hayatku.

Ketiga kakakku yang terus memberikan motivasi untuk terus berjuang melewati masa-masa sulit, memotivasi untuk berkarya dan menuntaskan studiku.

Para guru dan dosen yang telah mendidik dan mengajariku hingga hari ini dengan dedikasi, kesabaran, dan keikhlasannya.

Sahabat-sahabatku, rekan-rekan seperjuangan yang selalu memberikan semangat, dukungan, saling berbagi pengalaman, selalu menguatkan disaat-saat sulit, serta mengajarkan arti sebuah persaudaraan.

Almamater tercinta

MOTTO

Man Jadda Wa Jada, Man Shobaro Zafiro

Jangan melupakan masa lalu mu, karena dari masa lalukita

dapat memperbaiki masa depan

" Ilmu Pengetahuan itu bukanlah yang dihafal, melainkan yang

memberi manfaat "

(Imam Syafi'i)

" Menyia-nyiakan waktu lebih buruk dari kematian. Karena kematian

memisahkanmu dari dunia sementara menyia-nyiakan waktu memisahkanmu

dari Allah "

(Imam bin Al Qayim)

SANWACANA

Segala puji bagi Allah SWT.Atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, limpahan karunia serta limpahan nikmat-Nya yang tak terhitung hingga hari ini sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini yang berjudul **"Karakterisasi Planlet Anggrek Cattleya (*Cattleya*sp.) Setelah Diinduksi Larutan Atonik Dalam Kondisi Cekaman Kekeringan Secara *In Vitro*"**. Shalawat serta salam semoga tercurahkan kepada Rasullulah SAW beserta keluarga dan sahabat di akhir zaman, Aamiin.

Teriring doa, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Kedua orangtua ku tercinta Bapak Jacob Sofyan (alm) dan Ibu Remilia yang telah memberikan kasih sayang, dukungan, semangat, keyakinan, dan doa yang tiada hentinya kepada penulis. Semoga Allah membalas dengan *jannah*-Nya kelak. Amin.
2. Kakakku Freddy Yaso Paletra, Marshel Reli Paletra, dan Tisa Septalia Paletri yang telah memberikan semangat, saran, bantuan, serta doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

3. Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si. selaku pembimbing utama yang telah memberikan arahan, saran, serta dengan sabar membimbing penulis dalam penelitian hingga dapat terselesaikan skripsi ini.
4. Ibu Dra. Yulianty, M. Si. selaku pembimbing kedua yang telah memberikan semangat, arahan, dan saran kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga terselesaikan skripsi ini.
5. Ibu Rochmah Agustrina, Ph.D. selaku pembahas yang telah memberikan motivasi, saran, bimbingan, serta semangat kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga terselesaikan skripsi ini.
6. Bapak Dr. Sumardi, M.Si. selaku pembimbing akademik atas bimbingan, kritik dan sarannya kepada penulis dalam menempuh pendidikan di Jurusan Biologi.
7. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku Rektor Universitas Lampung.
8. Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph,D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
9. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
10. Kepala Laboratorium Botani, Jurusan Biologi beserta seluruh staf teknisi yang telah memberikan izin dan fasilitas selama penulis melaksanakan penelitian.
11. Bapak dan Ibu dosen yang tidak dapat disebutkan satu-persatu, terimakasih atas bimbingan dan ilmu yang sudah diberikan selama penulis melaksanakan studi di Jurusan Biologi.

12. Rekan seperjuangan penelitian Kultur Jaringan Fesya, Anis, Nadya, Nadia, Sindy, Genta, Essy, dan Nalindri. Terima kasih untuk segala kerjasama, kebersamaan, semangat, serta doanya selama menjalani penelitian ini.
13. Teman terbaik Fesya, Davina, Mia, Indah, Mitha, dan Sarti. Terima kasih atas kebersamaan serta doa yang diberikan satu sama lain hingga akhir.
14. Teman setia Siti, Irma, Indria, Juwita, Mizan, Basuki, Destea, Ika, dan Rani. Terima kasih atas dukungan serta doa yang diberikan selama perkuliahan.
15. Tim woro-woro Betara, Gena, Astri, Vielda, Diajeng, Dayat, Kiki, dan Mardhi. Terima kasih atas semangat, dan doanya dari awal hingga sekarang.
16. Partner masa SMA ku Aisyah, Intan, Chatya, Fica, Tiara, dan Rinty. Terima kasih selalu menyempatkan hadir di hari penting penulis.
17. Semua pihak yang telah membantu dan mempermudah penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
18. Almamater tercinta.

Akhir kata, Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangandalam penyusunan skripsi ini, akan tetapi semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, 16 April 2018

Penulis,

Tara Sesafia Paletri

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK ..... **i**

HALAMAN PERSETUJUAN ..... **ii**

HALAMAN PENGESAHAN ..... **iii**

RIWAYAT HIDUP ..... **iv**

PERSEMBAHAN ..... **vi**

MOTTO ..... **vii**

SANWACANA ..... **viii**

DAFTAR ISI ..... **xi**

DAFTAR TABEL ..... **xiii**

DAFTAR GAMBAR ..... **xiv**

I. PENDAHULUAN **1**

A. Latar Belakang 1
B. Tujuan Penelitian 4
C. Manfaat Penelitian 5
D. Kerangka Pemikiran 5
E. Hipotesis 6

II. TINJAUAN PUSTAKA **8**

A. Tanaman Anggrek Cattleya 8
1. Klasifikasi 8
2. Morfologi 8

3. Syarat Tumbuh Anggrek 10
B. Cekaman Kekeringan 11
C. *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 13
D. Atonik 15
E. Kultur *in vitro* 16
F. Biosintesis Klorofil 18
G. Stomata 20
H. Karbohidrat 21

III. METODE KERJA 22

A. Waktu dan Tempat 22
B. Alat dan Bahan 22
C. Rancangan Percobaan 23
D. Bagan Alir Penelitian 24
E. Pelaksanaan Penelitian 26
1. Strerilisasi Alat 26
2. Persiapan Medium Tanam 26
3. Persiapan Medium Seleksi 27
4. Induksi Planlet Dengan Larutan Atonik 27
5. Pengamatan 28
a. Persentase Jumlah Planlet yang Hidup 28
b. Visualisasi Tanaman 28
c. Analisis Kandungan Klorofil 28
d. Indeks Stomata 29
e. Analisis Kandungan Karbohidrat 29
6. Analisis Data 31

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 32

A. Persentase Jumlah Planlet Hidup dan Visualisasi Planlet 32
B. Kandungan Klorofil 37
a. Kandungan klorofil a 37
b. Kandungan klorofil b 39
c. Kandungan klorofil total 41
C. Kandungan Karbohidrat 44
D. Indeks Stomata 46

V. SIMPULAN DAN SARAN 51

DAFTAR PUSTAKA 53

LAMPIRAN 60

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Notasi Faktor Kombinasi Perlakuan 23

Tabel 2. Tata Letak Satuan Percobaan 25

Tabel 3.Persentase jumlah planlet hidup hasil berbagai kombinasi 33

Tabel 4. Persentase visualisasi planlet anggrek *Cattleya* 33

Tabel 5.Uji kandungan klorofil a planlet anggrek *Cattleya*sp. 3 minggu setelah perlakuan kombinasi atonik dan PEG 6000. 38

Tabel 6.Uji kandungan klorofil b planlet anggrek *Cattleya*sp.3 minggu setelah perlakuan kombinasi atonik dan PEG 6000. 40

Tabel 7.Uji kandungan klorofil total planlet anggrek *Cattleya*3 minggu setelah perlakuan kombinasi atonik dan PEG 6000. 42

Tabel 8.Uji kandungan karbohidrat planlet anggrek *Cattleya*3 minggu setelah perlakuan kombinasi atonik dan PEG 6000. 45

Tabel 9.Uji indeks stomata planlet anggrek *Cattleya*3 minggu setelah perlakuan kombinasi atonik dan PEG 6000. 48

Tabel 10.Komposisi medium *Vacin and Went* (VW). 61

Tabel 11.Analisis Ragam Klorofil a. 63

Tabel 12. Analisis Ragam Klorofil b 65

Tabel 13. Analisis Ragam Klorofil total 67

Tabel 14. Analisis Ragam Karbohidrat 69

Tabel 15. Analisis Ragam Indeks Stomata 71

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Bunga Anggrek Cattleya 10

Gambar 2. Bagan Alir Penelitian 27

Gambar 3.Planlet anggrek Cattleyasetelah 3 minggu diberi perlakuan 35

Gambar 4.Permukaan bawah daun planlet anggrek Cattleya..... 47

Gambar 5.Histogram kandungan klorofil a..... 73

Gambar 6. Histogram kandungan klorofil b 73

Gambar 7. Histogram kandungan klorofil total 74

Gambar 8. Histogram kandungan karbohidrat 74

Gambar 9. Histogram indeks stomata 75

Gambar 10. Penimbangan komposisi medium VW 76

Gambar 11. Pembuatan medium VW 76

Gambar 12. Penambahan PEG dalam medium VW 77

Gambar 13. Penanaman planlet pada medium VW 77

Gambar 14. Planlet yang telah ditanam pada medium VW 77

Gambar 15. Pengukuran intensitas cahaya menggunakan lux meter..... 78

Gambar 16.Proses penimbangan planlet 78

Gambar 17. Larutan ekstraksi untuk analisis klorofil 78

Gambar 18. Pembuatan ekstraksi untuk analisis kandungan karbohidrat.... 79

Gambar 19. Larutan ekstaksi untuk analisis karbohidrat..... 79

Gambar 20. Pengamatan untuk indeks stomata 80

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia mempunyai beragam jenis tumbuhan termasuk tumbuhan epifit. Salah satunya adalah jenis anggrek yang diperkirakan jumlahnya lebih dari 5000 jenis. Bertanam anggrek sangat menguntungkan untuk masyarakat di wilayah Indonesia karena ditunjang oleh iklim yang sesuai. Indonesia sendiri merupakan negara dengan tingkat kekayaan plasma nutfah anggrek terbesar kedua setelah Brasil (Darmono, 2003).

Anggrek merupakan salah satu komoditas tanaman hortikultura yang mempunyai peranan penting dalam produksi pertanian, khususnya untuk tanaman hias (Widyas, 2009). Sebagai tanaman hias, anggrek memiliki nilai ekonomi tinggi, sehingga banyak masyarakat luas tertarik untuk memiliki tanaman ini (Ramadiana dkk., 2008).

Sarwono (2002) menyatakan bahwa anggrek merupakan salah satu tanaman berbiji dari suku Orchidaceae yang banyak diminati karena bentuk dan warna bunganya menarik sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku industri bunga

potong, tanaman pot, atau hiasan taman. Perkembangan produksi tanaman anggrek di Indonesia terbilang masih relatif lambat. Rendahnya produktivitas dan kualitas anggrek Indonesia menyebabkan tanaman ini belum dapat bersaing di pasar internasional (Widiastoety dan Nurmalinda, 2010). Hal inilah yang menyebabkan menurunnya volume ekspor tanaman anggrek dari Indonesia.

Salah satu jenis anggrek yang banyak digemari di Indonesia adalah marga *Cattleya*. Keistimewaan anggrek Cattleya adalah bunganya yang besar, berwarna cerah, dan baunya harum (Kasim, 2006).Keindahan dan kecantikan bunga anggrek membuat tanaman ini disebut *queen of flower* (Rahmatia, 2007). Anggrek Cattleya memiliki banyak jenis yang merupakan hasil persilangan. Persilangan tersebut dapat dilakukan baik antar jenis maupun antar marga (Rahmatia dan Pitriana , 2007). Ciri khas yang dimiliki anggrek Cattleya selain ukuran bunganya yang besar adalah warna bunganya yang sangat beragam (Iswanto 2010).

Tanaman anggrek memerlukan kadar air yang tepat untuk tumbuh dengan baik. Pemberian air yang terlalu banyak dapat menyebabkan akar membusuk dan tanaman mati (Gunawan, 2007). Namun pada daerah tertentu seperti wilayah lampung yang sering mengalami musim kemarau berkepanjangan justru dapat menyebabkan cekaman kekeringan bagi tanaman anggrek sehingga mengakibatkan tanaman kekurangan unsur hara (Agrios, 2004).

Cekaman kekeringan pada tanaman anggrek dapat disimulasikan dengan cara mengurangi potensial air media tanpa menyebabkan keracunan bagi tanaman tersebut melalui induksi PEG dengan berat molekukl yang tepat ditambahkan pada medium *in vitro* (Lawyer, 1970). Michel dan Kaufman (1973) menyatakan kondisi cekaman kekeringan secara *in vitro* dapat disimulasi dengan menurunkan potensial air media, yaitu dengan penambahan senyawa PEG (*Poly Ethylene Glycol*) 6000. Besarnya penurunan potensial air tergantung pada konsentrasi dan berat molekul PEG yang diberikan. Penggunaan senyawa PEG dalam induksi cekaman air pada tanaman sudah dipakai sejak lama. PEG banyak dimanfaatkan sebagai komponen seleksi pada berbagai jenis tanaman dapat menurunkan pertumbuhan tanaman sekaligus dapat menghasilkan genotip-genotip baru yang tahan terhadap cekaman kekeringan (Hutami, 2006).

Upaya meningkatkan produktivitas anggrek Cattleya dapat dilakukan dengan pemberian Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Atonik merupakan zat pengatur tumbuh yang berfungsi merangsang proses fisiologi dan metabolism, efektif dalam mempercepat perkembangan sel, meningkatkan perkecambahan benih, menambah kekuatan tanaman, jumlah bunga. Atonik juga dapat meningkatkan toleransi perakaran dan pertumbuhan tanaman terhadap tekanan suhu dan kekeringan (Gornik dan Grzesik, 2005).

Atonik adalah ZPT yang mengandung senyawa nitroaromatik, natrium ortho nitrofenol, natrium 2,4 dinitrofenol, natrium paranitrofenol, natrium 5 nitro

guaikolat. Zat-zat tersebut berfungsi merangsang proses fisiologi dan metabolisme, sehingga unsur hara didalam tanaman dan hasil serapan dimanfaatkan secara optimal dan berimbang (Mokko dkk., 1993).

Sejauh ini belum banyak dilakukan penelitian untuk mendapatkan planlet anggrek Cattleya yang tahan terhadap cekaman kekeringan setelah diinduksi larutan atonik secara *in vitro*. Oleh karena itu penelitian ini menarik untuk dilakukan.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah :

1. mengetahui konsentrasi larutan atonik yang optimum untuk pertumbuhan planlet anggrek Cattleya yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro.*
2. mengetahui konsentrasi PEG 6000 yang dapat ditoleran oleh pertumbuhan planlet anggrek Cattleya yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro.*
3. mengetahui pengaruh interaksi antara larutan atonik dengan PEG 6000 pada setiap ekspresi karakter planlet anggrek Cattleya.

4. mengetahui ekspresi karakter spesifik planlet anggrek Cattleya yang mengalami cekaman kekeringan berdasarkan kandungan klorofil, indeks stomata, dan kandungan karbohidrat.

C. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan mampu memberikan informasi tentang peran atonik dan PEG 6000 terhadap ketahanan planlet anggrek *Cattleya* sp. terhadap cekaman kekeringan. Secara ilmiah dapat menjelaskan peran larutan atonik dan PEG 6000 diharapkan mampu memberikan kontribusi dalam ilmu pengetahuan terutama di bidang pemulian dan ilmu terapan yang terkait.

D. Kerangka Pemikiran

Anggrek merupakan salah satu flora Indonesia dengan jumlah jenis yang cukup banyak. Keberhasilan anggrek yang tumbuh dan berkembang di wilayah Indonesia karena iklim Indonesia yang sesuai untuk pertumbuhan. Anggrek diketahui memiliki nilai ekonomi yang tinggi sehingga banyak diminati di masyarakat.

Anggrek Cattleya memiliki keistimewaan dibandingkan dengan jenis anggrek lainnya yaitu bentuk bunganya besar, warnanya beragam dan menarik, dan bau

bunganya yang harum. Keistimewaan inilah yang membuat anggrek ini dapat bersaing di pasar nasional maupun internasional.

Salah satu kendala dalam pembudidayaan anggrek adalah iklim karena tidak semua wilayah di Indonesia memiliki iklim yang bersuhu dingin/rendah. Syarat tumbuh anggrek dipengaruhi oleh suhu yang rendah, cahaya matahari yang rendah (30% cahaya penuh), dan kelembaban udara. Sedangkan untuk wilayah Bandar Lampung sering mengalami kondisi musim kemarau berkepanjangan. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya cekaman kekeringan.

Salah satu cara untuk mengatasi cekaman kekeringan adalah dengan mencari genotip yang tahan terhadap cekaman kekeringan yang dapat diperoleh melalui seleksi *in vitro* menggunakan larutan atonik dan *Poly Ethylene Glycol* (PEG).

E. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah :

1. terdapat kisaran konsentrasi larutan atonik yang optimum untuk pertumbuhan planlet anggrek Cattleya yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.
2. terdapat kisaran konsentrasi PEG yang dapat ditolerir untuk pertumbuhan planlet anggrek Cattleya yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.

3. terdapat interaksi antara larutan atonik dengan PEG 6000 pada setiap ekspresi karakter planlet anggrek Cattleya.
4. adanya ekspresi karakter spesifik pada planlet anggrek Cattleya yang mengalami cekaman kekeringan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Anggrek Cattleya

1. Klasifikasi

Klasifikasi bunga anggrek Cattleya dalam sistem klasifikasi Cronquist (1981) dan APG II (2003) adalah sebagai berikut :

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Bangsa : Asparagales

Suku : Orchidaceae

Marga : *Cattleya*

Jenis : *Cattleya* sp.

2. Morfologi

Tanaman anggrek *Cattleya* sp. merupakan famili *Orchidaceae* yang menjadi salah satu tanaman hias populer di seluruh dunia. Tanaman ini memiliki jenis, variasi bentuk, warna, dan karakter bunga yang sangat indah dan unik (Qosim dkk., 2012). Sekitar 20 % masyarakat Indonesia menyukai anggrek

potong jenis *Cattleya* sp. (Departemen Pertanian, 2015). Permintaan pasar terhadap anggrek Cattleya semakin meningkat. Akibat terjadinya permintaan tersebut, menyebabkan anggrek Cattleya memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi sehingga sangat potensial untuk dikembangkan secara komersial (Gunawan, 2007).

Anggrek Cattleya termasuk epifit yaitu tanaman yang menempel pada tanaman lain menggunakan akarnya. Anggrek Cattleya memiliki bentuk akar silindris dan berujung runcing. Akar anggrek umumnya akar lunak, mudah patah, dan sedikit lengket. Akar anggrek Cattleya tampak berwarna putih keperak-perakan pada bagian luarnya dan berwarna hijau hanya pada bagian ujungnya jika dalam keadaan kering (Darmono, 2003).

Batang anggrek Cattleya biasanya mengalami penebalan membentuk batang semu (pseudobulb) (Hew dan Young, 1997). Pseudobulb biasanya berbentuk ganda agak pipih, keras dan berdaging serta memiliki ukuran yang bervariasi tergantung pada spesiesnya (Darmono, 2003).

Daun anggrek Cattleya berbentuk lebar dengan tulang daun lurus, dan berjumlah satu atau dua helai tiap batang (Sandra, 2003). Anggrek Cattleya yang sering dijumpai adalah jenis anggrek Cattleya berdaun tebal dan banyak mengandung air (Darmono, 2003).

Bentuk bunga anggrek Cattleya termasuk ke dalam tipe zigomorfik yaitu tipe yang hanya dapat dibagi dalam satu simetri. Anggrek Cattleya memiliki buah berbentuk kapsul yang berbelah enam. Buah-buah tersebut mengandung banyak biji yang tidak memiliki endosperma (Gunawan, 1986).

Morfologi anggrek Cattleya disajikan pada **Gambar 1**.

Gambar 1. Bunga anggrek Cattleya
(Foto Paletri, diambil di Koleksi Soerjanto Orchids, Batu, Jawa Timur, 2017)

3. Syarat Tumbuh Anggrek

Anggrek Cattleya memiliki syarat lingkungan tertentu untuk tumbuh. Anggrek ini dapat tumbuh pada daerah dengan ketinggian antara 750-2000 mdpl. Pertumbuhan anggrek Cattleya dipengaruhi oleh suhu, cahaya matahari, dan kelembaban udara. Ketiga faktor lingkungan ini merupakan faktor primer yang menentukan keadaan iklim lingkungan setempat.

Di samping faktor primer terdapat juga faktor lingkungan sekunder yaitu medium pertumbuhan, air, dan makanan, serta faktor tambahan seperti hama dan penyakit (Sarwono, 2002).

Menurut Soeryowinoto (1974), suhu yang baik untuk pertumbuhan anggrek Cattleya yaitu suhu pada siang hari antara 21-32 ^{o}C dan suhu malam hari antara 13- 18 ^{o}C. Menurut Soeryowinoto (1974), anggrek Cattleya membutuhkan intensitas penyinaran matahari berkisar antara 2000-4000 fc atau 30% cahaya matahari penuh. Kelembaban nisbi (RH) yang dibutuhkan anggrek berkisar antara 60-80 %. Faktor kelembaban ini biasanya disertai dengan kelancaran sirkulasi udara (Iswanto, 2002).

B. Cekaman Kekeringan

Cekaman kekeringan merupakan salah satu faktor penghambat utama dalam meningkatkan produksi tanaman terutama di daerah-daerah yang mempunyai hambatan ketersediaan air. Kekeringan dapat merupakan cekaman primer maupun cekaman sekunder. Cekaman primer disebabkan oleh kekurangan air di lingkungan sekitar tumbuhan, sedangkan cekaman sekunder diinduksi oleh keadaan dingin, pembekuan, panas atau kadar garam. Ketika sel tumbuhan telah kehilangan air dan mempunyai tekanan turgor yang lebih rendah dibandingkan dengan nilai maksimumnya maka dapat dikatakan bahwa tumbuhan tersebut mengalami cekaman kekeringan (Darusman dkk., 1991; Tal, 1983; Fitter dan

Hay, 1994). Di samping itu permintaan air yang berlebihan oleh daun akibat laju evapotranspirasi yang melebihi laju absorpsi air walaupun ketersediaan air tanah cukup juga mengakibatkan cekaman kekeringan. Oleh sebab itu laju transpirasi, sistem perakaran, dan ketersediaan air tanah mempengaruhi serapan air oleh akar tanaman (Lakitan, 1996; Bray, 1997).

Cekaman kekeringan dari tingkat paling ringan sampai paling berat dapat mempengaruhi proses-proses biokimia yang berlangsung dalam sel tumbuhan. Kekeringan mempengaruhi reaksi-reaksi fotosintesis, sehingga laju fotosintesis menurun. Salah satu aspek fotosintesis yang sangat sensitif terhadap cekaman kekeringan, termasuk cekaman tingkat ringan, ialah biosintesis klorofil (Fitter dan Hay, 1994). Di samping itu pembentukan protoklorofil terhambat pada potensial air sedikit di bawah 0 atm (Salisbury dan Ross, 1992).

Jika tanaman mengalami kekeringan, terdapat dua macam respon yang dapat memperbaiki status air adalah (1) mengubah distribusi asimilat baru untuk lebih mendukung pertumbuhan akar daripada tajuk, sehingga dapat meningkatkan kapasitas akar menyerap air serta menghambat pertumbuhan tajuk untuk mengurangi transpirasi dan (2) mengatur derajat pembukaan stomata untuk menghambat hilangnya air melalui transpirasi (Mansfield dan Atkinson, 1990).

Mansfield dan Atkinson (1990) menyatakan bahwa mekanisme resistensi suatu tanaman terhadap cekaman dapat dikelompokkan menjadi 3 kategori yaitu

"*escape drought*" (melepaskan diri dari cekaman kekeringan), "*avoidance*" (penghindaran dari kekeringan), dan toleran. Pada saat terjadi kekeringan tanaman dapat melakukan lebih dari satu mekanisme secara bersamaan. Resistensi *escape* adalah kemampuan suatu tanaman dalam menyelesaikan siklus hidup sebelum mengalami kekurangan air yang parah. Resistensi penghindaran adalah kemampuan tanaman untuk tetap menjaga potensial jaringan dengan cara meningkatkan penyerapan air. Sedangkan resistensi toleran adalah kemampuan suatu tanaman untuk menjaga turgor melalui pengaturan osmotik.

C. *Poly Ethylene Glycol* (PEG)

Senyawa *polyethylene glycol* (PEG) merupakan senyawa yang dapat menurunkan potensial osmotik suatu larutan melalui aktivitas sub-unit etilena oksida yang dapat mengikat molekul air dengan ikatan hydrogen. PEG penggunaannya sudah luas dalam berbagai formulasi farmasetikal termasuk parenteral, topical, ophthalmic oral dan rektal. PEG ini stabil dalam air dan tidak menyebabkan iritasi kulit (Raymond, 2006).

Menurut Haris (1997) ciri-ciri PEG yaitu akan menjadi kental jika dilarutkan, tidak berwarna dan berbentuk putih. PEG juga sering disebut PEO (*Polietilene oxide*), POE (*Polyoxyethylene*), dan *Polyoxirane*. PEG memiliki sifat-sifat antara lain : 1). Larut dalam air, 2). Tidak larut dalam *ethyleter, Hexana, ethylene glikol*, 3). Tidak dapat larut dalam air yang memiliki suhu tinggi, 4). Tidak

beracun, 5). Sebagai agen seleksi sifat ketahanan gen yang toleran terhadap kekeringan. PEG 6000 memiliki struktur bentuk padat, berwarna putih, suhu lebur 55 - 63 ºC, berat molekul 6000-7000. Komposit polimer karbon dari PEG 6000 yaitu 0,082 mho. Konduktivitas yang paling besar ditunjukkan oleh PEG 600 sebelum penambahan uap etanol 90% hasil komposit polimer karbon (Gunawan dan Azhari, 2010).

Senyawa *Poly Ethylene Glycol* dapat menurunkan potensial air pada media untuk mendapatkan tanaman bervarian yang toleran terhadap cekaman kekeringan dan telah dilakukan terlebih dahulu pada tanaman padi, sorgum, dan anggur (Adkins dkk., 1995). Hasil penelitian yang pernah dilakukan menunjukkan adanya korelasi positif antara toleransi sel atau jaringan yang telah dikulturkan secara *in vitro* terhadap PEG dengan toleransi tanaman terhadap cekaman kekeringan.

Beberapa kelebihan dari senyawa PEG yaitu selektif agen diantaranya tidak toksis terhadap tanaman, dapat larut dalam air, dan telah digunakan untuk mengetahui pengaruh kelembaban terhadap perkecambahan biji tanaman budidaya (Plaut dkk., 1985). Senyawa PEG dengan berat molekul 6000 lebih sering dipilih karena PEG ini lebih mampu bekerja dengan baik pada tanaman dibandingkan PEG dengan berat molekul rendah (Michel dan Kaufman, 1973).

D. Atonik

Salah satu jenis zat pengatur tumbuh (ZPT) yang berperan untuk pertumbuhan akar, tunas, dan mempercepat pertumbuhan benih adalah atonik. Atonik adalah ZPT yang mengandung senyawa nitroaromatik, natrium ortho nitrofenol 0,2; natrium 2,4 dinitrofenol 0,050/0,-natrium paranitrofenol 0,302, natrium 5 nitro guaikolat 0,lo%. Atonik merupakan salah satu bentuk zat pengatur tumbuh sintetik yang berbentuk cairan kuning kecoklatan, mudah diserap tanaman, efektif mempercepat perkembangan sel, menambah kekuatan tanaman, dan meningkatkan produksi tanaman (Gornik dan Grzesik, 2005). Atonik berfungsi dalam merangsang proses fisiologi dan metabolism, sehingga unsure hara didalam tanaman dan hasil serapan dimanfaatkan secara optimal dan berimbang (Moko dkk., 1993).

Menurut Szydlo dan Pacholczak (2010), larutan atonik dapat juga merangsang pertumbuhan *Hydrangea arborescens* dan mengurangi setengah dari dosis pupuk yang dianjurkan. Toleransi perakaran dan pertumbuhan stek tanaman anggur terhadap tekanan suhu dan kekeringan dapat ditingkatkan dengan pemberian larutan atonik. Selain itu, senyawa ini dapat menurunkan kerusakan selama penyimpanan musim dingin juga mempengaruhi perfumbuhan lebih lanjut di musim vegetasi berikutnya (Gornik dkk.,2007).

Penggunaan ZPT Atonik dengan takaran 1 mL/L menghasilkan pengaruh terhadap perlakuan pada biji duku, karena dengan takaran tersebut 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.

Demikian juga Ardaka dkk., (2011) telah membuktikan bahwa ZPT atonik dengan stek pucuk yang beruas tiga (AB) paling baik digunakan untuk memperbanyak tanaman kalumpang secara vegetatif dengan persentase hidup 90%. Selain itu, atonik juga berhasil meningkatkan induksi perakaran hingga 89% dan rata-rata tunas yang tumbuh 2,4/batang terhadap eksplan batang apikal kakao dengan pemberian atonik.

E. Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan suatu teknik isolasi bagian tanaman seperti protoplasma, jaringan, atau organ dalam keadaan aseptik. Kultur jaringan bertujuan untuk menumbuhkan bagian tanaman tersebut agar dapat memperbanyak diri dan menjadi tanaman yang lengkap (Gunawan, 1992). Teknik kultur jaringan memiliki keuntungan yaitu menghasilkan tanaman baru dengan jumlah yang banyak dan dalam waktu yang singkat (Ning, 2013). Teknik

kultur jaringan dapat dilakukan dengan memodifikasi media dengan penambahan persenyawaan organik komplek (Untari dan Puspitaningtyias, 2006).

Keberhasilan kultur jaringan sangat bergantung pada media tumbuh yang digunakan. Media tumbuh yang digunakan mengandung garam-garam mineral, sumber karbohidrat, vitamin, zat pengatur tumbuh serta suplemen lain seperti senyawa-senyawa nitrogen organik dan asam-asam organik yang bermanfaat bagi tanaman (Gamborg dan Skyluk, 1981). Menurut Zulkarnain (2009), keberhasilan proses kultur jaringan juga ditentukan oleh berbagai faktor seleksi *in vitro,* sterilisasi berbagai alat yang digunakan, sterilisasi ekplan, komposisi medium dasar yang digunakan, kecukupan nutrien dan komponen lainnya, kelengkapan zat pengatur tumbuh, dan faktor lingkungan sekitar.

Kultur jarinngan memiliki 2 konsep 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 tujuan budidaya *in vitro*. Sifat bahan yang totipotensi saja tidak cukup untuk kesuksesan kegiatan kulturjaringan. Keadaan media tempat tumbuh, lingkungan yang mempengaruhinyaseperti : kelembaban, temperatur, cahaya, serta sterilisasi peralatan yang digunakan adalah hal mutlak yang harus dikendalikan (Santoso dan Nursandi, 2004).

F. Biosintesis Klorofil

Klorofil merupakan molekul kompleks yang berperan penting dalam proses fotosintesis dan berperan sebagai pengabsorbsi cahaya, transfer energi, transfer elektron dan katalisator pada tumbuhan (Taiz dan Zeiger, 1998). Klorofil bersama dengan CO_2, air, dan cahaya matahari berperan dalam membentuk karbohidrat pada proses fotosintesis (Jumin, 1989). Klorofil merupakan faktor utama yang mempengaruhi proses fotosintesis. Proses ini penting pada tumbuhan untuk mempertahankan pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Lie dkk., 2006).

Klorofil memiliki tiga fungsi utama dalam fotosintesis, yaitu memanfaatkan energi matahari, memicu fiksasi CO2 untuk menghasilkan karbohidrat dan menyediakan energi bagi ekosistem (Bahri, 2010). Klorofil di dalam kloroplas sering terikat longgar pada protein (Harbourne,1987). Sifat fisik klorofil antara lain memantulkan cahaya lain yang tidak diserapnya. Sedangkan sifat kimia pada klorofil yaitu tidak larut dalam air namun larut pada senyawa yang lebih polar seperti etanol (Dwidjoseputro, 1994).

Sintesis klorofil pada daun digunakan untuk menangkap cahaya dengan jumlah yang berbeda tergantung dengan faktor lingkungan dan genetic 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 merupakan salah satu faktor yang penting untuk pembentukan klorofil yang merupakan unsur hara makro (Hendriyani dan Nantya, 2009).

Ketersediaan air dan unsur hara dari dalam tanah berperan penting dalam sintesis klorofil (Syafi, 2008). Karbohidrat yang dihasilkan dalam fotosintesis memiliki banyak fungsi, salah satunya adalah penyusun dinding sel. Komponen dinding sel yang tebal akan menghambat penetrasi patogen. Oleh karena itu, kandungan klorofil dapat dijadikan parameter dalam mengukur ketahanan tanaman terhadap patogen.

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 dkk., 2011).

G. Stomata

Stomata merupakan celah pada epidermis yang dibatasi oleh sel penutup. Sel penutup berfungsi mengatur pelebaran dan penyempitan celah. Selain itu terdapat sel yang mengelilingi stomata disebut sel tetangga. Sel tetangga

memiliki peran penting didalam perubahan osmotik dan mengatur dalam lebar celah dan gerakan sel penutup (Hidayat, 1995).

Pada tumbuhan, stomata berfungsi sebagai organ respirasi. Stomata mengambil CO2 dari udara sebagai bahan fotosintesis, kemudian akan mengeluarkan O2 sebagai hasil fotosintesis (Salisbury dan Ross, 1995). Stomata pada umumnya terdapat pada permukaan bawah daun, tetapi pada beberapa jenis tumbuhan stomata berada di permukaan atas dan bawah daun (Lakitan, 1993).

Stomata berperan penting sebagai alat untuk adaptasi tanaman terhadap cekaman kekeringan. Pada kondisi kekeringan maka stomata akan menutup sebagai upaya untuk menahan laju transpirasi. Beberapa tanaman beradaptasi dengan cara mengurangi ukuran stomata dan jumlah stomata. Mekanisme membuka dan menutup stomata pada tanaman yang toleran terhadap cekaman kekeringan sangat efektif sehingga jaringan tanaman dapat menghindari kehilangan air melalui penguapan (Price dan Courtois, 1999).

H. Karbohidrat

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

Karbohidrat terdapat dalam berbagai bentuk diantaranya sukrosa, glukosa dan fruktan. Kandungan karbohidrat terlarut membantu tumbuhan dalam mempertahankan kehidupan pada kondisi cekaman (Masuko dkk., 2005). Selain pada batang kandungan karbohidrat juga dapat dijumpai pada akar dan daun. Perubahan karbohidrat terlarut total berpengaruh secara langsung terhadap respon fisiologis seperti fotosintesis dan respirasi (Kerepesi dan Galiba, 2000).

Cekaman kekeringan menyebabkan hasil fotosintesis menurun. Bila hasil fotosintesis tidak lagi mencukupi maka pemecahan molekul karbohidrat terlarut digunakan untuk mempertahankan proses metabolisme (Zhang dkk., 2010). Menurut Mafakheri dkk., (2010) tanaman yang mengalami kondisi cekaman kekeringan, kandungan karbohidrat terlarut totalnya meningkat.

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan dari Oktober 2017 sampai 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

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alumunium foil, *autoklaf, laminar air flow cabinet* (LAF), pinset, *scalpel,* mata pisau *scalpel*, kertas filter, *erlenmeyer* berukuran 50ml, kertas label, mikroskop, mikropipet, pipet tip, spektrofotometri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan analitik, tisu, *waterbatt,* dan kamera.

2. Bahan-bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah planlet anggrek *Cattleya* sp. yang diperoleh dari "Soerjanto Orchid" Batu, Jawa Timur, alkohol 70% dan 96% untuk sterilisasi alat dan bahan, akuades, *Poly Ethylen Glikol* (PEG) 6000,

bahan dasar *Vacin dan Went* (VW), *Benzine Amino Purine* (BAP), sukrosa, Plant Preservative Mixture (PPM), Kalium Hidroksida (KOH), Asam Chlorida (HCL), agar, arang aktif, larutan stok organik yaitu sukrosa, vitamin, asam amino, detergen dan baycline.

C. Rancangan Percobaan

Penelitian dilaksanakan secara faktorial yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap, dengan dua faktor. Faktor A: larutan atonik yang terdiri dari 3 taraf perlakuan yaitu 0 mL/L (A_1), 2 mL/L (A_2), dan 3 mL/L (A3), dan faktor B: konsentrasi *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 yang terdiri atas 3 taraf perlakuan yaitu 0% (B_1), 20% (B_2), dan 25% (B_3). Masing-masing unit perlakuan diulang 3 kali dan setiap ulangan terdiri dari 3 planlet anggrek Cattleya. Notasi faktor taraf kombinasi perlakuan disajikan pada Tabel 1 dan tata letak percobaan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Notasi faktor kombinasi perlakuan

Faktor	A			
B	Taraf	A_1	A_2	A_3
	B_1	A_1B_1	A_2B_1	A_3B_1
	B_2	A_1B_2	A_2B_2	A_3B_2
	B_3	A_1B_3	A_2B_3	A_3B_3

Keterangan :
A : Larutan atonik ; 0 mL/L (A1); 2 mL/L (A2); 3 mL/L (A3)
B : PEG 6000 ; 0% (B1); 20% (B2); 25% (B3)

Tabel 2. Tata letak satuan percobaan

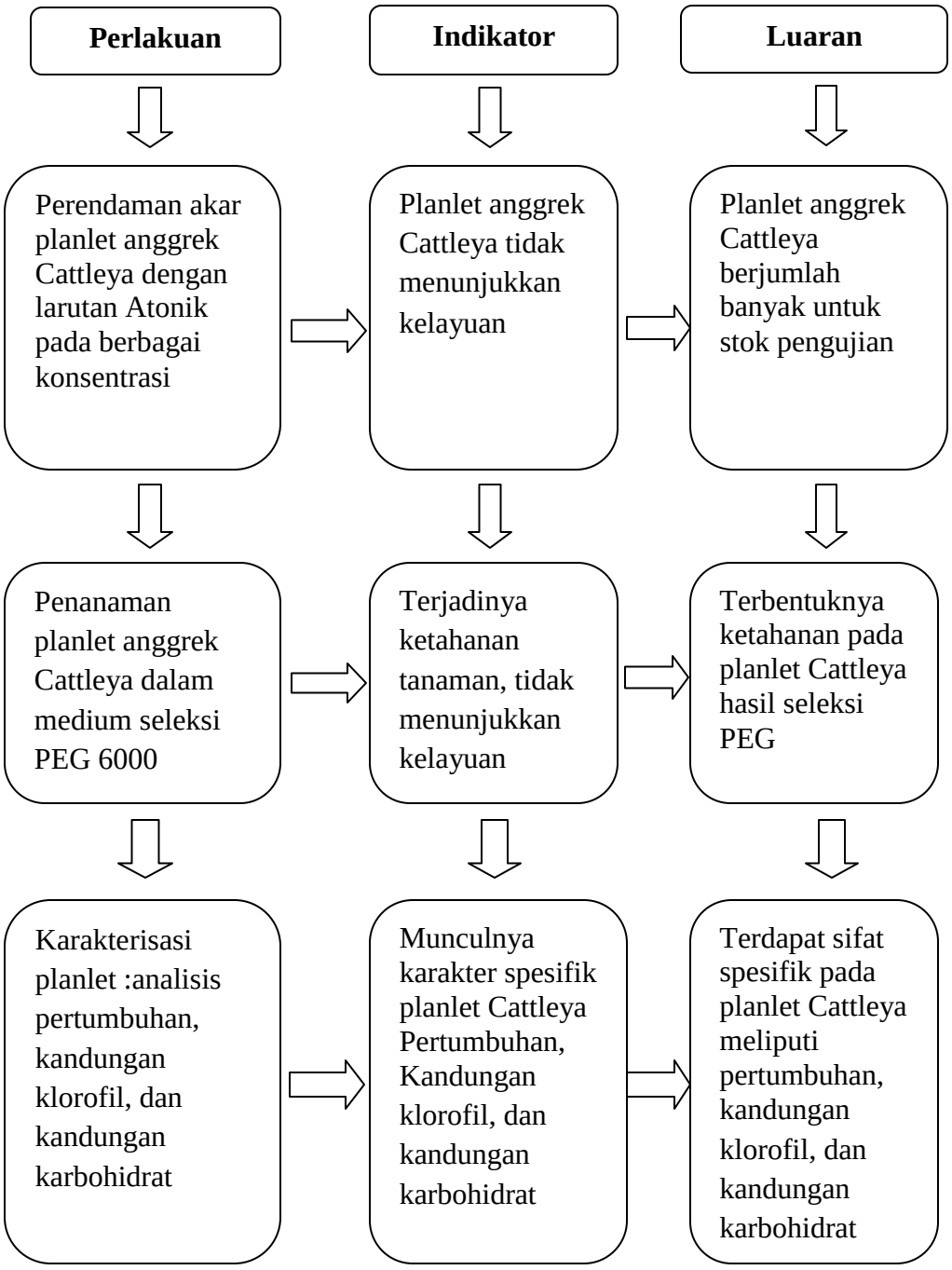
A1B1U2	A2B2U1	A3B2U1
A3B1U1	A2B3U2	A2B1U3
A1B1U3	A3B2U2	A1B2U2
A3B3U2	A2B1U1	A1B1U3
A1B3U2	A2B3U3	A2B2U2
A3B1U3	A2B1U2	A1B2U1
A2B3U1	A3B2U3	A1B2U3
A2B2U3	A3B3U1	A1B1U1
A1B3U1	A3B3U3	A3B1U2

Keterangan :
A : Larutan atonik ; 0 mL/L (A1); 2 mL/L (A2); 3 mL/L (A3)
B : PEG 6000 ; 0% (B1); 20% (B2); 25% (B3)
U : Ulangan (U1), (U2), (U3)

D. Bagan Alir Penelitian

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap, yaitu : 1) Penentuan kisaran konsentrasi larutan atonik untuk perendaman planlet Cattleya sebelum penanaman dalam medium, 2) Penanaman planlet Cattleya ke dalam medium VW yang sudah ditambahkan PEG 6000 sesuai konsentrasi, 3) Analisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet Cattleya meliputi analisis kandungan klorofil a, b, dan total, visualisasi planlet, indeks stomata, persentase jumlah planlet yang hidup dan kandungan karbohidrat. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 3 minggu.

Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti tercantum pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Bagan alir penelitian

E. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksaan penelitian meliputi berapa langkah sebagai berikut :

1. Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas dan *dissecting set* (*scalpel*, mata *scalpel*, pinset) dicuci dengan sabun cuci kemudian dibilas dengan air mengalir dan diautoklaf. Alat dari bahan gelas ditutup plastik, sedangkan alat-alat dari bahan logam dan cawan petri dibungkus dengan kertas hvs. Semua alat tersebut disterilisasi dalam autoklaf pada temperatur 121^{o}C, selama 30 menit.

2. Persiapan Medium Tanam

Medium tanam yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium *Vacin dan Went* (VW) padat. Pembuatan medium tanam VW 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 pada pH 5, dengan menambahkan KOH 1N jika terlalu asam dan HCL 1N jika terlalu basa. Larutan tersebut kemudian dipindahkan ke dalam wadah yang lebih besar kemudian ditambahkan agar-agar 7g/l, sukrosa 30g/l, dan PPM 0,5 ml/l. Larutan medium dipanaskan sambil diaduk untuk melarutkan agar-agar sampai mendidih. Penambahan ZPT dilakukan setelah larutan medium diangkat dari pemanas. Larutan medium tanam kemudian dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 20ml/botol. Sterilisasi medium

dilakukan dalam autoklaf pada tekanan 17,5 psi dan suhu 121^{o}C selama 15 menit.

3. Persiapan Medium Seleksi

Sebelum digunakan, PEG yang telah dilarutkan dengan akuades pada konsentrasi tertentu disaring menggunakan *syringe filter* berdiameter 0,45 μm sebanyak 2 kali dilanjutkan dengan *filter* berdiameter 0,22 µm satu kali. Penyaringan dilakukan dalam ruang steril di dalam *LAF Cabinet*. Selanjutnya PEG ditambahkan ke dalam medium VW yang telah disterilisasi menggunakan autoklaf. Sebelum digunakan, medium diinkubasi selama 7 hari pada suhu kamar (25^{o}C) untuk memastikan bahwa 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 filte*r berdiameter 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 sehingga diperoleh 3 konsentrasi yaitu 0 mL/L, 2 mL/L, 3 mL/L. Larutan atonik kemudian digunakan untuk merendam planlet anggrek Cattleya selama 10 menit.

5. Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada akhir minggu ke-3 inkubasi dan dievaluasi untuk mengetahui konsentrasi *Poly Ethylene Glycol* (PEG) dan Atonik yang optimum untuk seleksi planlet anggrek secara *in vitro.* Setelah 3 minggu inkubasi, planlet yang masih hidup di dalam botol kemudian dikarakterisasi berdasarkan parameter sebagai berikut.

a. Persentase Jumlah Planlet yang Hidup

Persentase jumlah planlet anggrek yang hidup dihitung dengan menggunakan rumus menurut Nurcahyani dkk.,(2014)

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

b. Visualisasi Tanaman

Visualisasi planlet yang diamati meliputi warna planlet dengan klasifikasi sebagai berikut: hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna cokelat, dan cokelat.

c. Analisis Kandungan Klorofil

Bahan yang digunakan untuk analisis klorofil yaitu daun planlet anggrek Cattleya yang telah diinduksi atonik dan diseleksi dengan PEG 6000 mengikuti metode Miazek (2002) dengan menggunakan spektrofotometer. Daun planlet Cattleya sebanyak 1 gram yang dibersihkan dari ibu tulang daunnya, digerus 100% dengan *pestle* dalam

mortar kemudian ditambahkan 5 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. Pembacaan serapan sampel dalam kuvet dilakukan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang (λ) 649 nm dan 665 nm. Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Chla} = 13.36\ A_{665} - 5.19\ A_{649} \left(\frac{v}{w\ x\ 1000}\right)$$

$$\text{Chlb} = 27.43\ A_{649} - 8.12\ A_{665} \left(\frac{v}{w\ x\ 1000}\right)$$

$$\text{Chltotal} = 22.24\ A_{649} - 5.24\ A_{665} \left(\frac{v}{w\ x\ 1000}\right)$$

Keterangan :

Chla = klorofil a

Chlb = klorofil b

Chltotal = klorofil total

A_{665} = absorbansi pada panjang gelombang 665 nm

A_{649} = absorbans pada panjang gelombang 649 nm

V = volume etanol

W = berat daun

d. Indeks Stomata

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

Daun planlet Cattleya dipotong – potong berbentuk segi empat dengan sisi ± 5 mm. Potongan daun dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi larutan cloralhidrat dalam air (5:1). Tabung dipanaskan dalam waterbath pada suhu 30^{o}C sampai 100^{o}C selama ±10-15 menit hingga potongan daun tersebut transparan. Potongan daun diletakkan dalam larutan cloralhidrat pada gelas benda. Permukaan tempat tercetak stomatan diletakkan menghadap ke atas, kemudian ditutup dengan gelas penutup. Preparat diamati pada 3 daerah pengamatan yang berlainan.Tiap sel epidermis (E) ditandai dengan (x), tiap stoma (S) ditandai dengan (O). Indeks stomata dihitung dengan rumus :

$$\frac{S}{E+S} \text{x } 100$$

e. Analisis Kandungan Karbohidrat

Analisis kandungan karbohidrat terlarut dilakukan menggunakan metode fenol-sulfur (Dubois, 1956). Planlet anggrek Cattleya diambil dan ditimbang sebanyak 0,1 gram. Filtrat sampel kemudian ditumbuk dalam *mortar* lalu diberi 10 ml akuades, disaring dengan kertas saring *Whatman* no.1 lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya filtrat diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan 1 ml H_2SO_4 dan fenol sebanyak 2 ml. Selanjutnya filtrat dimasukkan kedalam kuvet dan dibaca pada panjang gelombang 490 nm.

6. Analisis Data

Data pertumbuhan planlet anggrek *Cattleya* sp. selama seleksi dengan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan didukung foto. Data kuantitatif 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. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Konsentrasi larutan atonik yang optimum untuk pertumbuhan planlet anggrek Cattleya (*Cattleya* sp. Lindl) yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro* adalah 2 mL/L.
2. Konsentrasi PEG 6000 yang dapat ditolerir untuk pertumbuhan planlet anggrek Cattleya (*Cattleya* sp. Lindl) yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro* adalah 20% dan 25%.
3. Tidak terdapat interaksi antara larutan atonik dengan PEG 6000 pada setiap karakter ekspresi planlet anggrek Cattleya (*Cattleya* sp. Lindl).
4. Karakter ekspresi yang spesifik pada planlet anggrek Cattleya yang mengalami cekamana kekeringan meliputi :
    a. Kandungan klorofil a, b, dan total daun planlet anggrek Cattleya dengan perlakuan kombinasi larutan atonik dan PEG 6000 mengalami penurunan. Semakin tinggi konsentrasi PEG 6000, maka semakin menurun kandungan klorofil a, b, dan total.

b. Kandungan karbohidrat terlarut total pada planlet anggrek Cattleya dengan perlakuan kombinasi larutan atonik dan PEG 6000 mengalami peningkatan. Semakin tinggi konsentrasi PEG, maka semakin tinggi kandungan karbohidrat terlarut total.
c. Indeks stomata pada planlet anggrek Cattleya dengan perlakuan kombinasi larutan atonik dan PEG 6000 mengalami penurunan. Semakin tinggi konsentrasi PEG, maka semakin rendah indeks stomata.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menurunkan konsentrasi atonik dan karakter spesifik lainnya seperti kandungan prolin, kandungan fenol, dan analisis molekular.

DAFTAR PUSTAKA

Adkins SW, Kunanuvatchaidah. R, dan Godwin. ID. 1995. Somaclonal variation in rice drought tolerance and other agronomi characters. *Aust.J.Bot.* 8: 22-23.

Agrios, G. N. 2004. *Plant Pathology*. 4th ed. Academic Press. New York.

Ai, Nio Song dan Banyo, Yunia. 2010. Konsentrasi klorofil daun sebagai indicator kekurangan air pada tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains* 11 (2): 166-173.

Ardaka, I.M., LG. Tirta, dan Darma. 2011. Pengaruh jumlah ruas dan zat pengatur tumbuh terhadap pertumbuhan stek Pranajiw a (*Euchresta horsfieldii* (Lesch.) Benth. *Jurnal Penelitian Hutan lanaman*. 8 (2): 81 - 87.

Bahri, S. 2010. *Klorofil*. Diktat Kuliah Kapita Selekta Kimia Organik. Universitas Lampung. Lampung.

Bray, E.A. 1997. Plant responses to water deficit.*Trend in Plant Sci*. 2:48-54.

Cronquist, A. 1981.*An Integrated System of Classification of Flowering Plants.* Columbia University Press. New York.

Chaves, MM, Maroco, JP dan Pereira, JS 2003, Understanding plant responses to drought from genes to the whole plant, *Functional Plant Biology*, 30:239–264.

Darmono, D. W. 2003. *Merawat Cattleya*. Penebar Swadaya. Jakarta

Darusman, L.K., O. Koswara, J. Wiroatmodjo dan S. Arsjad. 1991. Pengaruh stress air dan pH tanah terhadap kemungkinan timbulnya senyawaan stress pada tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.). *Forum Pascasarjana* 14:13-23.

Departemen Pertanian. 2015. *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Anggrek*. Badan Litbang Pertanian.(Online) tersedia: http://www. litbang.pertanian.go.id/special/komoditas/ (18 Maret 2016).

Dubois, M., Gille, KA, Hamilton, JK, Rebers PA dan Smith, F. 1956. Colometri method for Determination of Sugars and Related Subtance. *Anal. Biochem* 28(1956): 143-145.

Dwidjoseputro. 1994. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. Pustaka Gramedia. Jakarta.

Fahn, A. 1991. *Anatomi Tumbuhan. Edisi ke III*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Fitter, A.H. dan R.K.M. Hay. 1994. *Fisiologi Lingkungan Tanaman*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Gamborg, O. L. dan J. P. Shyluk. 1981. *Nutrition, Media, and Characteristic of Plant Cell and Tissue Culture*. Teknik Kultur Jaringan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Gornik. K.,dan M. Grzesik. 2005. China aster plant growth, seed yield and quality as influenced by Asahi SL treatment. *Folia Horticulturae Ann*.r7(2): tr9-127.

Gornik K., M.Grzesik, dan A. Mika-2007. Improvement of grapevines rooting and growth of plants under stress conditions by Asahi SL.*Folia Horticulturae Ann*. 19(2): 57-67 .

Gunawan, L. W. 1986. *Budidaya Anggrek*. Penebar Swadaya. Jakarta.

Gunawan, L. W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan*. PAU Bioteknologi. IPB. Bogor.

Gunawan, L. W. 2007. *Budidaya Anggrek*. Edisi Revisi. 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.

Harbourne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. ITB. Bandung. pp 259-261.

Haris, M.J. 1997. *Chemistry, Biotechnical and Biomedical Aplications,* online (www.interscience.wiley.com/app).Diakses pada tanggal 11 Oktober 2009.

Hendriyani, I. S dan Nantya, S. 2009. *Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang* (*Vigna sinensis*) *pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda*. J. Sains & Mat. 17(3): 145-150.

Hew CS dan Young JWH. 1997. *The Physiology of Tropical Orchids in Relation to the Industry*. World Scientific. Singapore.

Hidayat, E. B. 1995. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. Penerbit ITB. Bandung.

Hutami, M. 2006. Seleksi *in vitro* tanaman kedelai untuk meningkatkan sifat toleran kekeringan. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan 23 (2): 93-100.

Homayoun, H., Daliri, MS., dan Mehrabi, P. 2011. Effect of Drought Stress on Leaf Chlorophyll in Corn Cultivars (*Zea mays*). *Middle-East Journal of Scientific Research* 9 (3): 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.

Iswanto, H. 2002. *Petunjuk Perawatan Anggrek.* Agro Media Putri. Jakarta.

Iswanto, H. 2010. *Petunjuk Praktis Merawat Anggrek.* Agromedia Pustaka. Jakarta.

Jumin, H. B. 1989. *Ekologi Tumbuhan.* Rajawali Press. Jakarta.

Kerepesi, I and 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 Effects of Drought Stress on Yield, Relative Water Content, Proline, Soluble Carbohydrates and Chlorophyll of Bread Wheat Cultivars. *Journal of Animal & Plant Sciences*8(3): 1051-1060

Kholova J, Hash, CT Kakkera, Kocova AM dan Vades V. 2010. Constitutive water-conserving mechanisms are correlated with the terminal drought tolerance of Pearl Millet [*Punnisetum glaucoma*(L.) R. Br.]. *Journal of Experimental Botany* 61(2): 369-377.

Kurniasari, A. M. Adisyahputra, dan R. Rosman. 2010. *Pengaruh Kekeringan pada Tanah Bergaram NaCl terhadap Pertumbuhan Tanaman Nilam*. Jurusan Biologi FMIPA UI. Jakarta.

Lakitan, B. 1993. *Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan.* Raja Grafindo Persada. Jakarta.

Lakitan, B. 1996. *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman*. Rajawali Press. Jakarta.

Lakitan, B. 2013. *Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan*. Rajawali Press. Jakarta.

Lawlor, D. W. 2002. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: Stomata vs. Metabolism and the role of ATP. *Annals of Botany*, *89*, 871–885.

Lawyer, D.W. 1970. *Absorption of polyethilene glicol by plants enther effect on plant growth*. New Physiol.

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.

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.

Mahajan, S., dan Tuteja, N. 2010. Cold, Salinity, and Drought Stress. *Plant Stress Biology: From Genomics to Systems Biology*, 444: 37–159.

Mansfield, T.A. dan C.J. Atkinson. 1990. Stomatal behavior in water stressed plants. Dalam: Alscher dan Cumming (Eds.). *Stress Response in Plant Adaptation and Acclimation Mechanisms*. Wiley Liss Inc., New York. hal 241-246.

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. Krystian. *Chlorophyll Extraction From Harvested Plant Material.* Supervisior: Prof. Dr. Ha. Inz Stanislaw Ledakowicz.

Michel, B.E., and M.R. Kaufmann. 1973. The Osmotic Potential of Poly-ethylene Glycol 6000. *Plant Physiol*. 51:914-916.

Moko, H., E. Rachmat dan S.M.D. Rosita. 1993. Respon meniran terhadap penggunaan zatpengatur tumbuh. *Prosiding Seminar Meniran dan Kedawung 2 (4)*. Bogor: 29-30.

Nilsen ET dan Orcutt DM. 1996.*The physiology of plants under stress: Abiotic Factors.* U.S.: John Wiley and Sons.Inc. 279-357.

Ning. 2013. *Kultur In Vitro dan Konvensional Anggrek*. (Online)tersedia : http://neechatree16.com/index.php/2015/10/17/kultur (09 Mei2016).

Nurcahyani, E., B. Hadisutrisno, I. Sumardi, dan E. Suharyanto. 2014. Identifikasi galur planlet vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Resisten terhadap infeksi *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanilla* hasil seleksi *in vitro* dengan asam fusarat. *Prosiding Seminar Nasional: "Pengendalian Penyakit Pada Tanaman*

Pertanian Rumah Lingkungan". Perhimpunan Fitopatologi Indonesia Komda Joglosemar –Fakultas Pertanian UGM. ISBN 978-602-71784-0-3./2014. Pp 272-279

Plaut dan Heuer. 1985. A simple Precedure to Overcome Polyethylene Glycol Toxicity on Whole Plants. *Plant physiol*. 79:559-561.

Price, A. dan B. Courtois. 1999. *Mapping QTLs Associated with Drought Resistence in Rice ; Progress Problem and Prospect.* Los Banos: International Rice Research Institute.

Qosim, W.A., Istifadah, N., Djatnika, I., dan Yunitasari. 2012. Pengaruh mutagen etil metan sulfonat terhadap kapasitas regenerasi tunas hibrida phalaenopsisin vitro. *J. Hort*. 22 (4) : 360 – 365.

Rahmatia D. dan Pitriana P. 2007. *Pengayaan Seri Flora dan Fauna 'Bunga Anggrek'*. Ganesha Ecxact. Jakarta.

Ramadiana, S., A.P. Sari, Yusnita, dan D. Hapsoro. 2008. *Hibridisasi, Pengaruh Dua Jenis Media Dasar dan Pepton Terhadap Perkecambahan Biji dan Pertumbuhan Protokorm Anggrek Dendrobium Hibrida secara In Vitro.*Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II Universitas Lampung.17-18 Agustus.

Raymond, Chang. 2006. *Kimia Dasar: Konsep-konsep Inti Jilid 1*. Erlangga. Jakarta.

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.

Ruzin, SE. 1999. *Plant Microtechnique and Microscopy*. Oxford University Press. New York.

Sandra, E. 2003. *Membuat Anggrek Rajin Berbunga*. Penebar Swadaya. Jakarta.

Santoso, U. dan Nursandi, F. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.

Salisbury, dan Ross. 1992. *Fisiologi Tumbuhan*. ITB Press. Bandung.

Sarwono, B. 2002. *Mengenal dan Membuat Anggrek Hibrida.* Agro Media Pustaka. Depok.

Savitri, E.S. 2010. Pengujian *in vitro* Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine* max L. Merr) Toleran Kekeringan Menggunakan *Polyethylene Glikol*(PEG) 6000 pada Media Padat dan Cair. *El-Hayah* Vol. 1 No.2

Soeryowinoto, S. M. 1974. *Merawat Anggrek*. Kanisius.Yogyakarta. [internet]. Tersedia pada: http://books.google.co .id.

Solichatun, Anggarwulan E, Mudyantini. 2005. Pengaruh ketersediaan air terhadap pertumbuhan dan kandungan bahan aktif saponin tanaman ginseng Jawa. *Biofarmasi* 3 (2): 47-51.

Sumiati, E. 2001. Pengaruh Pemberian Zat Pengatur Tumbuh terhadap Hasil, Kualitas, dan Umur Simpan Buah Tomat Kultivar Gondol. *Jurnal Hortikultura*. 11: 30-39.

Syafi, S. 2008. *Respon Morfologis dan Fisiologis Bibit Berbagai Genotip Jarak Pagar (Jatropha curcas* L.*) Terhadap Cekaman Kekeringan*. IPB. Bogor. [Tesis].

Szydlo W. dan A. Pacholczak. 2010. Effect ofbiopreparation Asahi SL and fertilizer Osmocote5-6M on growth of *Hydrangea arborescens*'Anabelle'. *Horticulture and LandscapeArchitecture* 3l:3-9.

Taiz, L. dan Zeiger, E. 1998. *Plant Physiology*. Second Edition. Sinauer Associate Inc. Publisher Sunderland, Massachusetts.667 p.

Untari, R dan D. Puspitaningtyas.(2006). Pengaruh Bahan Organik dan NAA terhadap Pertumbuhan Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) dalam Kultur *in Vitro. J. Biodiversitas*. 7 (3) : 344 – 348.

Widiastoety, D. dan Nurmalinda. 2010. Pengaruh Suplemen Nonsintetik terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Vanda. *Jurnal Hortikultura*. Vol. 20 No. 1.

Widyas. 2009. *Analisis Risiko Anggrek Phalaenopsis pada PT Ekakarya Graha Flora di Cikampek, Jawa Barat*. Fakultas Ekonomi dan Manajemen, Institut Pertanian Bogor. Bogor. [Skripsi].

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

Zhang J., YaoY., John GS., dan David CF. 2010. Influence of soil drought stress on photosynthesis, carbohydrates and the nitrogen and phophorus absorb in different section of leaves and stem of Fugi/M.9EML, a young apple seedling. *Afr J Biotechnol* Vol 9, pp : 5320-5325.

Zlatev, Z., dan Lidon, F. C. (2012). An overview on drought induced changes in plant growth , water relations and photosynthesis. *Emir. J.Food Agric.*, *24*(1), 57–72.

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