

**KARAKTER EKSPRESI SPESIFIK PLANLET ANGGREK BULAN  
[*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] HASIL SELEKSI *IN VITRO* YANG  
DIINDUKSI LARUTAN ATONIK DALAM PEG 6000**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**SUCI MIFTAHURIZQI**

**NPM 1817021027**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2022**

## ABSTRAK

### KARAKTER EKSPRESI SPESIFIK PLANLET ANGGREK BULAN [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] HASIL SELEKSI *IN VITRO* YANG DIINDUKSI LARUTAN ATONIK DALAM PEG 6000

Oleh

SUCI MIFTAHURIZQI

Anggrek bulan merupakan anggrek asli Indonesia yang masuk daftar terancam punah. Kendala dalam budidaya anggrek adalah kurangnya ketersediaan air. Kondisi tersebut akan menghambat proses sintesis hormon endogen sehingga mengakibatkan penurunan produktivitas. Alternatif untuk mengatasi cekaman kekeringan salah satunya yaitu dengan menggunakan varietas yang tahan melalui teknik *in vitro* dengan memberikan agen penyeleksi. *Poly Ethylene Glycol* (PEG) merupakan agen penyeleksi dan atonik merupakan ZPT golongan auksin eksogen yang berfungsi merangsang proses pertumbuhan. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan konsentrasi terbaik antara PEG 6000 dan larutan atonik terhadap cekaman kekeringan dan analisis karakter ekspresi spesifik. Penelitian dilakukan Januari-Maret 2022 di Ruang Kultur *In Vitro*, Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dua faktor. Perlakuan yang dilakukan yaitu planlet direndam pada larutan atonik dengan masing-masing konsentrasi 0 mL/L, 5 mL/L, dan 10 mL/L selama 1 menit kemudian ditanam pada medium yang telah ditambahkan PEG 6000 dengan konsentrasi 0%, 15%, dan 30%. Data dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) dan uji lanjut BNT pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara PEG 6000 dengan konsentrasi 30% dan larutan atonik 0 mL/L terhadap cekaman kekeringan. Larutan atonik yang optimum yaitu 0 mL/L. Konsentrasi PEG 6000 toleran yaitu pada konsentrasi 30%. Pada konsentrasi PEG 6000 30% dan atonik 0 mL/L menunjukkan bahwa planlet yang resisten tetap berwarna hijau saat terjadi cekaman kekeringan, kandungan karbohidrat total lebih tinggi dari perlakuan lain dan Indeks stomata lebih rendah dari perlakuan lain

**Kata kunci :** Atonik, Cekaman Kekeringan, PEG 6000, dan *Phalaenopsis amabilis*

**KARAKTER EKSPRESI SPESIFIK PLANLET ANGGREK BULAN  
[*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] HASIL SELEKSI *IN VITRO* YANG  
DIINDUKSI LARUTAN ATONIK DALAM PEG 6000**

**Oleh**

**SUCI MIFTAHURIZQI**

**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  
2022**

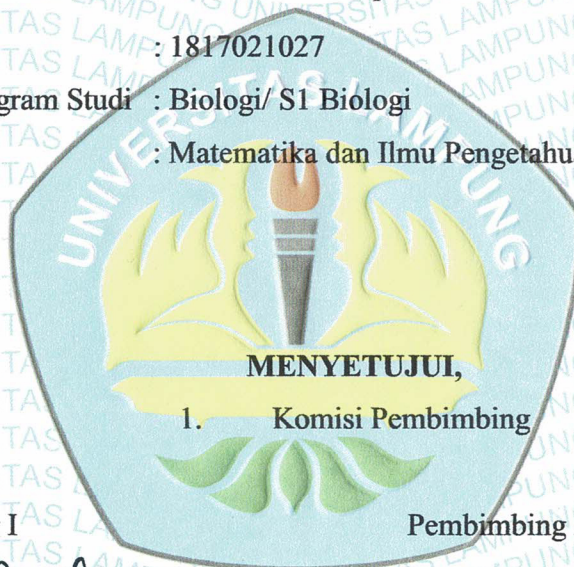
**Judul Skripsi** : KARAKTER EKSPRESI SPESIFIK PLANLET  
ANGGREK BULAN [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.]  
HASIL SELEKSI *IN VITRO* YANG DIINDUKSI  
LARUTAN ATONIK DALAM PEG 6000

**Nama Mahasiswa** : Suci Miftahurizqi

**NPM** : 1817021027

**Jurusan/ Program Studi** : Biologi/ S1 Biologi

**Fakultas** : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. **Komisi Pembimbing**

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

**Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.**  
NIP. 196510311992032003

**Dra. Tundjung Tripeni H, M.S.**  
NIP. 195806241984032002

2. **Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila**

**Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.**  
NIP. 198301312008121001

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

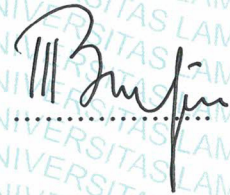
**Ketua : Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.**



**Anggota Penguji : Dra. Tundjung Tripeni H, M.S.**



**Penguji Utama : Dr. Bambang Irawan, M.Sc.**



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



**Dr. Eng Suropto Dwi Yuwono, S.Si., M.T.**

**NIP. 197407052000031001**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 12 Agustus 2022**

## **SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Suci Miftahurizqi

NPM : 1817021027

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain hasil plagiat dari karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya

Bandar Lampung, 03 Oktober 2022

Yang menyatakan,



Suci Miftahurizqi  
NPM. 1817021027

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Rajabasa Lama, Labuhan Ratu, Lampung Timur pada tanggal 19 Desember 1999, sebagai anak pertama dari dua bersaudara, dari pasangan Bapak Dadang Rukmana dan Ibu Aris Sumarsih. Penulis menempuh pendidikan pertama di RA EL-Qodar diselesaikan pada tahun 2006, selanjutnya penulis menempuh pendidikan di SDN 1 Rajabasa Lama diselesaikan pada tahun 2012, lalu penulis melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMPN 1 Labuhan Ratu diselesaikan pada tahun 2015, kemudian penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMAN 1 Way Jepara lulus pada tahun 2018. Pada tahun 2018, penulis diterima sebagai mahasiswi Universitas Lampung Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Penulis aktif di kegiatan organisasi kemahasiswaan antara lain Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) sebagai bendahara bidang kaderisasi dan kepemimpinan tahun 2019, UKMF Rois FMIPA Unila sebagai kepala biro kemuslimahan tahun 2020, UKMU BIROHMAH Unila sebagai sekretaris departemen Hubungan Masyarakat tahun 2021. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada bulan Februari – Maret 2021 di Desa Rajabasa Lama, Kecamatan Labuhan Ratu, Kabupaten Lampung Timur. Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) pada bulan Agustus-September 2021 dengan judul **“Teknik Kultur dan Kepadatan Sel *Thalassiosira* sp. dengan Jenis Pupuk Berbeda Skala Laboratorium”**. Penulis mulai melaksanakan penelitian pada bulan Januari – Maret 2022 di Ruang Kultur *In Vitro*, Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

## **PERSEMBAHAN**

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT berkat rahmat, rezeki, hidayah dan karunia-Nya sehingga karya tulis ini dapat diselesaikan, maka karya ini kupersembahkan kepada orang-orang yang kusayangi:

Abah dan Umi tercinta yang sangat kusayangi, yang selalu menjadi *support system* terbaik, dukungan, motivasi, dan doa-doa yang selalu melangit, supaya menjadi pribadi yang baik, serta bermanfaat bagi banyak orang sepanjang hayat.

Para dosen yang telah mendidik dan memberikan ilmu, nasihat bagi penulis dan mengajarku dengan penuh kesabaran dan keikhlasan selama menjalankan proses pendidikan ini.

Adiku yang selalu memberi semangat, dan motivasi untuk berkarya dan menuntaskan masa pendidikanku.

Sahabat-sahabatku, teman-teman seperjuangan, dan rekan-rekan yang selalu memberikan motivasi dan semangat dalam melewati proses perkuliahan dari awal hingga menyelesaikan studi.

## **MOTTO**

“Cukuplah Allah bagiku, tidak ada tuhan selain Dia. Hanya kepada-Nya aku bertawakal dan Dia adalah Tuhan yang memiliki Arsy yang agung”

QS. At-Taubah :129

“Aku tahu, rizqiku takkan diambil orang. Karenanya hatiku tenang. Aku tahu amalku takkan dikerjakan orang, karenanya kusibuk berjuang”

-Hasan Al-Bashri

“Seorang alim yang rabbani, adalah dia yang mengajari manusia ilmu yang sebesar-besarnya hingga sekecil-kecilnya”

-Abdullah ibn ‘Abbas, Radhiyallahu’ Anhu

“Dahsyatnya do’a melepasatkan cinta pada Rabb semesta”

-Penulis

## SANWACANA

Asalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh, Alhamdullilahi robbilalamin. Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi yang berjudul **“KARAKTER EKSPRESI SPESIFIK PLANLET ANGGREK BULAN [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] HASIL SELEKSI *IN VITRO* YANG DIINDUKSI LARUTAN ATONIK DALAM PEG 6000”** dengan baik

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari motivasi, bimbingan, masukan, arahan, nasihat, curahan waktu, dan perhatian yang tiada henti selama dalam penelitian, penulisan, dan proses menyelesaikan studi. Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang tinggi kepada **Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.**, selaku pembimbing utama, dan kepada **Ibu Dra. Tundjung Tripeni Handayani, M.S.** selaku pembimbing kedua.

Penulis sangat menyadari bahwa selama proses penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan. Namun, atas bantuan Allah SWT dan pihak-pihak yang terlibat sehingga semua kendala dapat teratasi. Untuk itu penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Bambang Irawan, M.Sc., selaku pembahas yang telah sabar memberi masukan, mengarahkan penulis dalam proses pembuatan skripsi ini.
2. Bapak (Alm) Ir. Zulkifli, M.Sc. selaku pembimbing kedua yang telah memberikan arahan serta masukan pada saat penulis memulai penelitian.
3. Bapak Dr. Mohammad Sofwan Effendi, M.Ed. selaku Plt Rektor Universitas Lampung.

4. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, S.Si., M.T. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
5. Bapak Jani Master, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung
6. Ibu Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi S1 Biologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Gregorius Nugroho Susanto, M.Sc., selaku pembimbing akademik
8. Ibu Dr. Sri Wahyuningsih, M.Si., selaku kepala Laboratorium Botani, Jurusan Biologi FMIPA Unila beserta seluruh staf yang telah memberi izin, fasilitas dan bantuan kepada penulis selama melakukan penelitian.
9. Bapak Ibu Dosen serta staf yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas ilmu dan bimbingan yang diberikan kepada penulis selama menempuh Pendidikan di Jurusan Biologi.
10. Kedua orangtuaku tercinta Abah Dadang Rukmana dan Umi Aris Sumarsih yang tiada hentinya selalu mendoakan, mendukung baik moril maupun materil, kasih sayang, kesabaran serta motivasi kepada penulis.
11. Adikku tercinta Farhan Ilham Kamil yang selalu mendo'akan, memberikan semangat, kepada penulis.
12. Keluarga besarku yang selalu memberikan semangat dalam mengerjakan skripsi.
13. Sahabatku tersayang Eva, Niken, Isti, Monica, Novia, Putri, Mirda, Ayu, Ajeng, Salsa yang telah mendukung, menyemangati, dan memotivasi penulis.
14. Sahabat seperjuangan di perkuliahan Ratih, Heni, Novia, Ana, Eka, Inah yang telah banyak memberikan semangat kepada penulis
15. Teman sekamar asrama Mba Lani Yuniarti dan Indah Ayu Lestari yang tidak pernah bosan mendengarkan cerita apapun setiap harinya, memberikan semangat, dan motivasi.

16. Sahabat seperjuangan penelitian Desti, Meilyana, Aura, Feriza, Galih, Gilang, Zelfi, Dwi, Asrini, Syavira, Vega dan Jabar atas kerjasama, kebersamaan, kritik dan saran serta semangat yang telah diberikan kepada penulis.
17. Teman-teman seperjuangan KKN Desa Rajabasa Lama, Labuhan Ratu, Lampung Timur Hilmy, Sadzili, Wulan, Mustika, Santi, Eva.
18. Keluarga besar Rumah Qur'an Mahasiswa (RQM) 3
19. Keluarga besar Birohmah Unila kabinet Bianglala periode 2021
20. Keluarga besar Rois FMIPA Unila kabinet Itizam periode 2020
21. Keluarga besar HIMBIO FMIPA Unila periode 2019
22. Teman-teman Biologi FMIPA Unila 2018 yang selalu menyemangati penulis dalam melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi.
23. Kakak dan adik tingkat serta semua yang telah membantu penulis menyelesaikan skripsi, yang tidak dapat disebutkan namanya satu per satu.
24. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan, yang telah ikut serta membantu dalam penulisan skripsi ini
25. Terakhir, ucapan terimakasih kepada diri sendiri karena sudah berhasil melalui proses hingga saat ini. Terimakasih sudah bertahan, selalu sehat, sabar dan tak pernah memutuskan untuk menyerah pada setiap hal dalam perkuliahan maupun penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat diperlukan dalam penulisan dikemudian hari supaya menjadi lebih baik dan semoga penulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, 03 Oktober 2022

Penulis,

Suci Miftahurizqi

## DAFTAR ISI

|                                                                         |             |
|-------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>ABSTRAK .....</b>                                                    | <b>i</b>    |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>                                         | <b>iii</b>  |
| <b>SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI .....</b>                          | <b>iv</b>   |
| <b>RIWAYAT HIDUP .....</b>                                              | <b>v</b>    |
| <b>PERSEMBAHAN.....</b>                                                 | <b>vi</b>   |
| <b>MOTTO .....</b>                                                      | <b>vii</b>  |
| <b>SANWACANA .....</b>                                                  | <b>viii</b> |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                                                  | <b>xi</b>   |
| <b>DAFTAR TABEL.....</b>                                                | <b>xiv</b>  |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                                               | <b>xv</b>   |
| <b>I PENDAHULUAN .....</b>                                              | <b>1</b>    |
| 1.1 Latar Belakang dan Masalah .....                                    | 1           |
| 1.2 Tujuan Penelitian.....                                              | 3           |
| 1.3 Manfaat Penelitian.....                                             | 4           |
| 1.4 Kerangka Berpikir .....                                             | 4           |
| 1.5 Hipotesis .....                                                     | 5           |
| <b>II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                                         | <b>7</b>    |
| 2.1 Tanaman Anggrek Bulan [ <i>Phalaenopsis amabilis</i> (L.) Bl.]..... | 7           |
| 2.2 Sejarah Anggrek Bulan.....                                          | 9           |
| 2.3 Syarat Tumbuh .....                                                 | 9           |
| 2.4 Cekaman Kekeringan .....                                            | 10          |

|                                     |                                                     |           |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------|
| 2.5                                 | <i>Poly Ethylene Glycol (PEG)</i> .....             | 10        |
| 2.6                                 | Atonik .....                                        | 11        |
| 2.7                                 | Kultur <i>In Vitro</i> .....                        | 12        |
| 2.8                                 | Kandungan Karbohidrat .....                         | 12        |
| 2.9                                 | Stomata.....                                        | 13        |
| <b>III METODE PENELITIAN .....</b>  |                                                     | <b>14</b> |
| 3.1                                 | Waktu dan Tempat .....                              | 14        |
| 3.2                                 | Alat dan Bahan .....                                | 14        |
| 3.3                                 | Rancangan Percobaan.....                            | 15        |
| 3.4                                 | Bagan Alir Penelitian .....                         | 16        |
| 3.5                                 | Pelaksanaan Penelitian .....                        | 18        |
| 3.5.1                               | Sterilisasi Alat.....                               | 18        |
| 3.5.2                               | Persiapan Medium Tanam .....                        | 18        |
| 3.5.3                               | Persiapan Medium Seleksi.....                       | 18        |
| 3.5.4                               | Induksi dengan Larutan Atonik .....                 | 19        |
| 3.5.5                               | Penanaman Eskplan .....                             | 19        |
| 3.6                                 | Pengamatan.....                                     | 19        |
| 3.6.1                               | Persentase Jumlah Planet yang Hidup .....           | 19        |
| 3.6.2                               | Visualisasi Planlet.....                            | 20        |
| 3.6.3                               | Analisis Kandungan Karbohidrat.....                 | 20        |
| 3.6.4                               | Analisis Indeks Stomata.....                        | 20        |
| 3.6.5                               | Analisis Data.....                                  | 21        |
| <b>IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b> |                                                     | <b>22</b> |
| 4.1.                                | Presentase Jumlah Planet Hidup dan Visualisasi..... | 23        |
| 4.2.                                | Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total.....  | 27        |

|                                   |           |
|-----------------------------------|-----------|
| 4.3. Analisis Indeks Stomata..... | 30        |
| <b>V KESIMPULAN.....</b>          | <b>33</b> |
| 5.1. Simpulan .....               | 33        |
| 5.2. Saran.....                   | 33        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>        | <b>34</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>              | <b>40</b> |

## DAFTAR TABEL

| Tabel                                                                          | Halaman |
|--------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Notasi Perlakuan dan Ulangan .....                                          | 15      |
| 2. Tata Letak Satuan Percobaan .....                                           | 16      |
| 3. Persentase Jumlah Planlet <i>P. amabilis</i> .....                          | 23      |
| 4. Persentase Visualissi Planlet <i>P. amabilis</i> .....                      | 25      |
| 5. Rata-rata Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet <i>P. amabilis</i> . | 28      |
| 6. Rata-rata Kandungan Indeks Stomata Planlet <i>P. amabilis</i> .....         | 30      |
| 7. Analisis Kandungan Karbohidrat Total .....                                  | 42      |
| 8. Analisis Indeks Stomata .....                                               | 44      |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar                                                                                        | Halaman |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Bunga [ <i>Phalaenopsis amabilis</i> (L.) Bl.] .....                                       | 7       |
| 2. Struktur <i>Poly Ethylen Glycol</i> (PEG) .....                                            | 11      |
| 3. Bagan Alir Penelitian .....                                                                | 17      |
| 4. Visualisasi Planlet <i>P. amabilis</i> .....                                               | 27      |
| 5. Grafik Interaksi antara PEG 6000 dan Larutan Atonik pada Kandungan Karbohidrat Total ..... | 28      |
| 6. Grafik Interaksi Antara PEG 6000 dan Larutan Atonik pada Indeks Stomata .....              | 31      |
| 7. Stomata Daun planlet <i>P.amabilis</i> .....                                               | 31      |
| 8. Penimbangan Komposisi Medium VW .....                                                      | 46      |
| 9. Pembuatan Medium VW .....                                                                  | 46      |
| 10. Penanaman Planlet yang Telah direndam Atonik pada Medium VW .                             | 47      |
| 11. Planlet yang Telah ditanam pada Medium VW .....                                           | 47      |
| 12. Penimbangan planlet anggrek yang telah ditanam selama 3 minggu .                          | 48      |
| 13. Pengamatan Indeks Stomata .....                                                           | 48      |

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang dan Masalah

Anggrek merupakan tanaman berbunga yang memiliki nilai ekonomi cukup tinggi dan harganya relatif stabil, dengan warna, bentuk, dan ukuran bunga yang beragam, sehingga menciptakan daya tarik tersendiri bagi para pecinta anggrek (Djatnika, 2012). Jenis anggrek yang banyak diminati oleh masyarakat Indonesia adalah anggrek bulan. Anggrek bulan [*P. amabilis* (L.) Bl.] mampu mekar dan bertahan segar dua sampai empat bulan (Iryani dkk., 2020).

Anggrek bulan [*P. amabilis* (L.) Bl.] merupakan anggrek asli Indonesia yang masuk ke dalam daftar terancam punah, selain itu anggrek bulan juga ditetapkan sebagai salah satu dari tiga bunga nasional yang dikenal sebagai puspa pesona melalui Keputusan Presiden Nomor. 4/1993 selain bunga melati (*Jasminum sambac* L.) sebagai puspa bangsa, dan bunga padma raksasa (*Rafflesia arnoldii* R. Br.) sebagai puspa langka.

Produksi anggrek bulan di Indonesia masih sangat tertinggal jika dibandingkan dengan negara-negara lain. Kendala yang dihadapi oleh petani anggrek dalam budidaya anggrek adalah kurangnya ketersediaan air yang cukup. Terbatasnya ketersediaan air pada lingkungan tumbuhan (medium tanam) disebut dengan cekaman kekeringan. Cekaman kekeringan mengakibatkan penurunan produktivitas pada tanaman ditandai dengan melambatnya pertumbuhan luas daun serta berpengaruh pada stomata ataupun fotosintesis pada daun. Kekeringan hampir selalu terjadi pada

setiap tahun di Indonesia, sehingga menjadi faktor pembatas utama bagi pertumbuhan tanaman (Ai *et al.*, 2006).

Salah satu alternatif untuk mengatasi cekaman kekeringan pada tanaman secara efektif dan efisien yaitu dengan menggunakan varietas yang tahan. Teknik *in vitro* merupakan suatu cara untuk mendapatkan bibit varietas yang tahan terhadap kekeringan dengan memberikan agen penyeleksi kedalam medium tanam (Muliani dkk., 2014). Agen penyeleksi digunakan untuk mengidentifikasi variasi somaklonal yang mampu bertahan pada kondisi tertentu. Untuk mendapatkan planlet yang tahan terhadap cekaman kekeringan dilakukan dengan menginduksi PEG sebagai agen penyeleksi dengan berat molekul lebih dari 4000 pada medium seleksi *in vitro* (Ashari dkk., 2018; Rosyalina dkk., 2018).

*Poly Ethylene Glycol* (PEG) merupakan suatu senyawa kimia yang mampu menurunkan potensial osmotik dengan mengikat molekul air menggunakan ikatan hidrogen akibat adanya aktivitas matriks sub unit etilen oksida sehingga berfungsi sebagai kondisi selektif untuk melihat respon jaringan yang ditanam dan mengisolasi varian yang mempunyai fenotip toleran terhadap cekaman kekeringan.

Pada saat terjadi kekeringan proses sintesis hormon endogen berlangsung secara lambat sehingga diperlukan hormon eksogen untuk membantu proses pertumbuhan suatu tanaman. Salah satu faktor untuk menunjang produktivitas anggrek bulan dapat dilakukan dengan menambahkan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Dalam kultur *in vitro* ZPT yang dibutuhkan terdiri dari dua golongan yaitu auksin dan sitokinin (Karjadi dan Buchory, 2008). Auksin mampu menunjang pertumbuhan akar, sementara sitokinin mampu menunjang pertumbuhan tunas. Salah satu respon tanaman ketika menghadapi cekaman kekeringan yaitu dengan memperdalam sistem perakaran untuk mencari sumber air (Sujinah dan Jamil, 2015)

Atonik merupakan ZPT golongan auksin. Penambahan auksin eksogen akan meningkatkan kemampuan tanaman untuk tumbuh. Hal ini

dikarenakan auksin eksogen akan meningkatkan aktifitas auksin endogen yang sudah ada pada tanaman sehingga proses pembelahan sel dan pembentukan organ tanaman lebih cepat (Darlina dkk., 2016). Atonik memiliki fungsi merangsang proses fisiologis dan metabolisme seperti mempercepat perkembangan sel, dan meningkatkan perkecambahan benih selain itu, atonik juga dapat meningkatkan toleransi perakaran dan pertumbuhan tanaman terhadap kekeringan (Gornik *et al.*, 2007).

Berdasarkan penelitian (Anada dkk., 2011) kadar atonik 1 mL/L mampu meningkatkan penyerapan unsur hara melalui akar. Kombinasi atonik dan PEG juga pernah dilakukan oleh (Palettri dkk., 2019) pada anggrek *Cattleya* sp. dengan konsentrasi PEG 0%, 20% dan 25% dan larutan atonik 2 mL/L dan 3 mL/L. PEG memiliki peran sebagai agen penyeleksi dan atonik mampu menstimulus pertumbuhan akar pada saat terjadi cekaman kekeringan. Penggunaan PEG 6000 dan larutan atonik diduga mampu menghasilkan varietas *P. amabilis* yang tahan terhadap cekaman kekeringan. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan kombinasi konsentrasi terbaik antara PEG 6000 dan larutan atonik terhadap karakter ekspresi spesifik planlet anggrek bulan hasil seleksi *in vitro*.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui konsentrasi interaksi antara larutan atonik dengan PEG 6000 pada setiap karakter ekspresi spesifik planlet anggrek bulan
2. Mengetahui konsentrasi larutan atonik yang optimum untuk pertumbuhan planlet *P. amabilis* terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.
3. Mengetahui konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk pertumbuhan planlet *P. amabilis* terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.
4. Mengetahui ekspresi karakter spesifik planlet *P. amabilis* yang mengalami cekaman kekeringan berdasarkan visualisasi planlet, kandungan karbohidrat, dan indeks stomata.

### 1.3 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai kombinasi penggunaan larutan atonik dan PEG 6000 untuk mendapatkan planlet anggrek bulan yang resisten terhadap cekaman kekeringan sehingga memberikan kontribusi bagi pengembangan ilmu pengetahuan terutama dibidang pemuliaan tanaman, dan ilmu terapan yang terkait.

### 1.4 Kerangka Berpikir

Anggrek bulan merupakan jenis tanaman berbunga yang banyak diminati karena memiliki warna dan bentuk yang indah. Selain itu anggrek bulan juga termasuk dalam bunga nasional yang dikenal sebagai puspa pesona. Dalam budidaya anggrek terdapat beberapa kendala diantaranya tidak dapat tahan terhadap cekaman kekeringan. Cekaman kekeringan mengakibatkan penurunan produktivitas anggrek bulan.

Seleksi kultur *in vitro* merupakan cara untuk mendapatkan varietas genotip yang tahan terhadap cekaman kekeringan dengan memberikan agen penyeleksi. Agen penyeleksi digunakan untuk mengidentifikasi variasi somaklonal terhadap suatu kondisi lingkungan. Induksi PEG 6000 sebagai agen penyeleksi pada medium kultur yang mampu menurunkan potensial air (Badami dan Amzeri, 2010).

Seleksi *in vitro* dengan induksi PEG 6000 telah diteliti dalam menghasilkan tanaman tahan terhadap cekaman kekeringan diantaranya tanaman padi hibrida menggunakan konsentration PEG 5%, 10%, 15%, 20% dan 25% (Afa dkk., 2012); tanaman tomat dengan konsentration PEG 5%, 10%, 15% 20% (Harahap *et al.*, 2013); planlet jeruk keprok batu 55 (*Citrus reticulata* Blanco var. *crenatifolia*) pada kombinasi atonik 1mL/L, PEG 3% (Ashari dkk., 2018) dan planlet jeruk siam pontianak (*Citrus Nobilis* Lour. var.

*microcarpa* Hassk.) pada kombinasi atonik 3 mL/L dan PEG 4% (Rosyalina dkk., 2018).

Tanaman yang mengalami cekaman kekeringan akan mengalami proses sintesis hormon endogen secara lambat sehingga diperlukan hormon eksogen untuk membantu proses pertumbuhan. Hormon eksogen dapat diperoleh dengan penambahan ZPT pada medium kultur yang mampu menunjang produktivitas tanaman. Pada saat terjadi kekeringan tanaman akan merespon dengan memperdalam system perakaran sehingga diperlukan ZPT yang mampu mempercepat proses pertumbuhan akar. Atonik merupakan golongan auksin eksogen yang mampu merangsang dan mempercepat pertumbuhan akar. Penggunaan PEG 6000 sebagai agen penyeleksi dan larutan atonik sebagai penstimulus pertumbuhan akar diduga mampu menghasilkan varietas yang tahan terhadap cekaman kekeringan.

Setelah didapatkan planlet *P. amabilis* yang mampu tumbuh pada medium yang ditambahkan PEG 6000 dan diinduksi larutan atonik dilakukan karakterisasi dengan menganalisis persentase jumlah planlet hidup, visualisasi planlet, kandungan karbohidrat, dan indeks stomata.

## 1.5 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Terdapat konsentrasi interaksi antara larutan atonik dengan PEG 6000 pada setiap karakter ekspresi spesifik planlet anggrek bulan.
2. Terdapat konsentrasi larutan atonik yang optimum untuk seleksi planlet *P. amabilis* terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.
3. Terdapat konsentrasi tertinggi PEG 6000 yang toleran untuk seleksi planlet *P. amabilis* yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.

4. Adanya karakter ekspresi spesifik pada planlet *P. amabilis* yang mengalami cekaman kekeringan meliputi visualisasi planlet, kandungan karbohidrat, dan indeks stomata.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Anggrek Bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.]

Anggrek bulan merupakan jenis tanaman berbunga yang banyak diminati oleh masyarakat Indonesia karena pesonanya yang sangat menarik dan biasa dimanfaatkan sebagai bunga potong maupun tanaman hias baik di rumah atau ditaman. Anggrek bulan tersebar di Pulau Jawa dan Sumatera. Anggrek bulan memiliki variasi warna yang beragam, bentuk yang lebih besar dan jika dibandingkan dengan anggrek jenis lain, anggrek bulan memiliki waktu mekar yang lebih lama (Fauziah dkk., 2014). Morfologi bunga [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] disajikan pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Morfologi Bunga [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.]

Sumber: Orchidspecies.com, 2021

Klasifikasi anggrek dalam sistem klasifikasi Cronquist (1981) adalah sebagai berikut:

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Bangsa: Orchidiales

Suku : Orchidaceae

Marga : *Phalaenopsis*

Jenis : *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume

Anggrek bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] memiliki bunga berwarna putih dengan tambahan variasi warna kuning sedikit dan di bibir bunga terdapat bintik kemerahan. Bunga anggrek bulan muncul dari ketiak daun, tersusun secara majemuk dan simetri bilateral. Kelopak bunga anggrek memiliki helaian berwarna mirip dengan mahkota bunga. Satu helaian mahkota bunga termodifikasi membentuk seperti lidah yang berfungsi melindungi suatu struktur aksesoris yang membawa benang sari dan putik. Tangkai benang sari sangat pendek dengan berbentuk cakram kecil pada kepala sari dan terlindungi oleh struktur kecil yang harus dibuka oleh serangga penyerbuk dan membawa serbuk sari ke putik. Anggrek bulan memiliki 2 macam akar yaitu akar lekat dan akar udara, akar lekat berfungsi untuk melekat, menopang keseluruhan tanaman agar tetap kokoh dan dapat menyerap air serta nutrisi, akar udara berfungsi untuk menyerap nutrisi dalam bentuk uap air dan gas (Binawati, 2012).

Tipe percabangan *P.amabilis* yaitu monopodial dimana bagian ujung batang akan tumbuh tidak terbatas. Percabangan monopodial merupakan kebalikan dari karakter simpodial. Perakaran *P. amabilis* tergolong aerial, yang keluar dari bagian bawah pangkal batang (Arobaya, 2022).

*P. amabilis* termasuk jenis anggrek epifit yang menempelkan bagian tubuhnya pada media tanam lain namun tidak merugikan tanaman yang ditumpanginya *P amabilis* memiliki lapisan velamen yang berfungsi dalam penyerapan air (Putra, 2009).

## 2.2 Sejarah Anggrek Bulan

Anggrek bulan memiliki nama latin *Phalaenopsis* yang berasal dari bahasa Yunani yang artinya “Ngengat atau Kupu-Kupu” dan Opsi yang artinya “menyerupai atau berbentuk”. Jika dalam bahasa Inggris dikenal dengan sebutan *Moth Orchid* (Puspitaningtyas dan Mursidawati, 2010)

Anggrek bulan ditemukan pada abad ke-17. Orang yang pertama kali menemukan spesies anggrek bulan di Ambon pada tahun 1750 adalah Rumphius, kemudian ia memberinya nama *Epidendrum albummajus*. Pada tahun 1753, Linnaeus memberi nama *Epidendrum amabilis* pada spesies anggrek bulan di Nusakambangan, kemudian diberi nama *Phalaenopsis amabilis*. Sejak saat itu anggrek bulan dikategorikan dalam genus *Phalaenopsis* (Rukmana, 2008).

## 2.3 Syarat Tumbuh

Tanaman anggrek dapat ditemui hampir di seluruh dunia, kecuali Antartika dan padang pasir. Tanaman anggrek memiliki jumlah yang sangat banyak, secara morfologi hampir mirip hanya lingkungan hidupnya saja yang berbeda tergantung habitat asalnya (Gunawan, 2007). Anggrek bulan dapat hidup pada kondisi wilayah yang lembab dan teduh, dengan ketinggian 50-600 mdpl dan dapat berkembang secara optimal pada ketinggian 700-1.100 mdpl. Anggrek bulan membutuhkan sedikit cahaya matahari (12.000-20.000 lux). Anggrek bulan tidak tahan terhadap cahaya matahari langsung. Kelembaban rata-rata yang diperlukan berkisar 70-80% suhu udara dibawah 29°C (Puspitaningtyas dan Mursidawati, 2010) Anggrek bulan tidak membutuhkan air dalam jumlah yang banyak, namun juga tidak terlalu sedikit. Pemberian air yang berlebihan sering kali merugikan anggrek, sehingga kebutuhan air harus disesuaikan dengan jenis anggrek. (Damayanti, 2011)

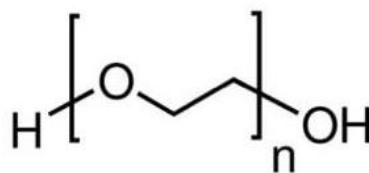
## 2.4 Cekaman Kekeringan

Cekaman kekeringan merupakan suatu keadaan dimana kadar air tanah berada pada batas minimum untuk pertumbuhan dan produksi tanaman. Pada stadia vegetatif kondisi tersebut dapat menurunkan luas daun dan menghambat pertambahan tinggi tanaman. Kondisi berkurangnya air di daerah perakaran berakibat pada aktivitas fisiologis tanaman (Khaerana *et al.*, 2008). Untuk menunjang pertumbuhan suatu tanaman yang baik diperlukan ketersediaan air yang cukup. Tanaman dapat melakukan mekanisme fisiologis dan morfologis pada saat kondisi cekaman kekeringan. Tanaman akan memanjangkan akar untuk mencari sumber air yang berada di dalam tanah. (Djazuli, 2010). Musim kemarau yang berkepanjangan berpengaruh pada tanaman sehingga pertumbuhan tanaman mengalami stagnasi (berhenti tumbuh) hal ini terjadi akibat dari respon tanaman terhadap cekaman kekeringan. Tanaman akan memanjangkan akar untuk mendapatkan air untuk diserap, mengecilkan permukaan daun untuk mengurangi respirasi, dan beberapa tanaman menggugurkan daunnya. Cekaman kekeringan di pengaruhi oleh 2 faktor yaitu laju evaporasi yang lebih tinggi dari pada proses absorpsi air tanah dan ketersediaan air di perakaran mulai berkurang sehingga akar akan memanjang untuk mendapatkan air (Lapanjang dkk., 2008)

## 2.5 *Poly Ethylene Glycol (PEG)*

*Poly Ethylene Glycol (PEG)* merupakan senyawa yang stabil, larut dalam air dan dapat digunakan dalam sebaran bobot molekul yang luas. Sifatnya yang larut dalam air dapat menurunkan potensial air secara homogen. Bobot molekul PEG lebih dari 4000 mampu menginduksi stres air pada tanaman dengan mengurangi potensial air pada medium tanpa menyebabkan keracunan (Sutjahjo dkk, 2007). *Poly Ethylene Glycol (PEG)* mampu menurunkan potensial osmotik larutan melalui aktivitas matriks sub-unit etilena oksida kemudian mengikat molekul air dengan ikatan hidrogen (Rahayu *et al.*, 2005).

PEG mampu menurunkan potensial air secara homogen sehingga dapat digunakan untuk meniru besarnya potensial air tanah. Penggunaan PEG pada tanaman perlu diperhatikan kadar optimalnya tergantung dari beberapa faktor seperti berat molekulnya, macam tanaman, kondisi ruang yang digunakan untuk inkubasi, temperatur, cahaya, besar kadar PEG yang dipakai dan lain-lain. Berdasarkan berat molekul pemakaian PEG 6000 bisa lebih efektif digunakan jika kadar keencerannya ditingkatkan (Gunawan dan Azhari 2010). Struktur PEG memiliki bentuk padat dengan warna putih, suhu lebur 55°C-63°C. Berat molekul 6000-7000. (Gunawan dan Azhari, 2010). PEG memiliki kelarutan 500 gram/l. Berikut struktur *Poly Ethylene Glycol* (PEG) disajikan pada **Gambar 2**.



**Gambar 2.** Struktur *Poly Ethylene Glycol* (PEG)

## 2.6 Atonik

Atonik memiliki sifat mudah diserap tanaman, mempercepat perkembangan sel, dan meningkatkan produksi tanaman. Atonik berbentuk cairan berwarna kuning kecokelatan. Atonik mempercepat proses pertumbuhan tanaman yang merespon melalui akar. Jumlah dan panjang akar dipengaruhi oleh pembentukan sel akar. Sistem perakaran yang baik akan menjamin pertumbuhan fungsinya untuk menyerap air, mineral, dan unsur hara (Anada dkk., 2011). Konsentrasi larutan atonik yang optimum untuk pertumbuhan anggrek *Cattleya* (*Cattleya* sp.) yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro* adalah 2 mL/L (Paletti dkk., 2019).

## 2.7 Kultur In Vitro

Teknik kultur *in vitro* merupakan proses induksi kalus yang bersifat embrionik, kultur jaringan didasarkan pada prinsip totipotensi sel yaitu setiap sel atau jaringan tumbuhan yang diambil dari bagian manapun akan tumbuh menjadi tumbuhan sempurna jika berada pada medium yang tepat (Bustami, 2011). Hasil regenerasi jaringan pada kultur jaringan secara *in vitro* memiliki fenotip yang toleran terhadap kondisi seleksi. Seleksi *in vitro* lebih efektif dan efisien. Hal tersebut karena kondisi seleksi dapat dibuat secara homogen, tempat yang dibutuhkan sedikit. Oleh karena itu, seleksi *in vitro* merupakan alternatif teknologi yang efektif untuk menghasilkan individu dengan karakter yang spesifik (Kadir, 2007). Dalam proses teknik kultur jaringan secara *in vitro*, tanaman yang dikembangkan akan dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan seperti pH, kelembapan, cahaya, dan temperatur. Faktor lingkungan tersebut berpengaruh terhadap proses diferensiasi dan pertumbuhan sel (Nugroho, 2010)

## 2.8 Kandungan Karbohidrat

Karbohidrat merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam jaringan tanaman terutama pada bagian biji dan daun. Senyawa karbohidrat berperan penting bagi pertumbuhan tanaman. Jika karbohidrat tidak ada maka tanaman tidak akan mampu tumbuh, berkembang, dan melakukan proses fisiologis secara normal akibat dari kurangnya energi yang bersumber dari karbohidrat. Tanaman akan mengurangi penggunaan karbohidrat pada saat terjadinya cekaman kekeringan, hal ini bertujuan untuk mempertahankan proses metabolisme (Liu *et al.*, 2007). Salah satu parameter yang dapat digunakan dalam cekaman kekeringan yaitu kandungan karbohidrat terlarut total. Kandungan karbohidrat berperan untuk mengatur tekanan potensial air pada cekaman kekeringan. Penelitian mengenai kandungan karbohidrat terlarut total pernah dilakukan pada Buncis (Nurchayani dkk., 2019a), kacang panjang (Nurchayani dkk., 2019b) yang tercekam kekeringan secara *in vitro*.

## 2.9 Stomata

Respon pertama tanaman ketika berada pada kondisi kurangnya ketersediaan air ialah dengan cara menutup stomata (Anggraini dkk., 2015). Stomata pada anggrek memiliki ukuran yang relatif kecil (Haryanti, 2010). Jika dibandingkan dengan anggrek kalajengking dan vanili, anggrek bulan memiliki stomata paling sedikit (Rompas dkk., 2011). Banyaknya air yang masuk ke sel penjaga akan mempengaruhi tekanan turgor. Tekanan turgor akan menentukan terbuka dan menutupnya stomata (Lakitan, 2012). Stomata yang menutup atau menyempit mempengaruhi proses fotosintesis, hal tersebut mengakibatkan penghambatan transportasi air pada tanaman dan menurunnya aliran karbondioksida pada daun (Zlatev dan Lidon, 2012). Kondisi cekaman kekeringan mempengaruhi distribusi air ke sel penjaga. Dimana terjadi penurunan tekanan turgor yang berdampak pada menutupnya stomata dan penurunan proses transpirasi. Hal ini juga terjadi pada jagung (*Zea mays* L.) transpirasi tanaman jagung pada kondisi kekeringan akan lebih rendah jika dibandingkan dengan kondisi cukup air. (Zhu *et al.*, 2012).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan dari bulan Januari 2022- Maret 2022 di Ruang Laboratorium Kultur *In Vitro*, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### a. Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *autoclave*, *laminar air flow* (LAF), pinset, *scalpel*, mata pisau *scalpel* alat pemotong eksplan, *erlenmeyer* berukuran 50 ml, cawan petri, corong, botol kultur berukuran 250 ml digunakan untuk tempat penanaman eksplan, gelas ukur bevolume 100 ml, *beaker glass* bervolume 500 ml, mikroskop, mikropipet, pipet tip, *spektrofotometri*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spatula, batang pengaduk, timbangan analitik, *waterbath*, dan kamera.

##### b. Bahan-bahan

Bahan- bahan yang digunakan adalah planlet anggrek bulan yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Kultur *In Vitro*, Jurusan Biologi, alumunium foil, alkohol 70% untuk sterilisasi alat dan bahan, akuades, kertas saring, karet gelang, plastik tahan panas, kertas tisu, kertas label, PEG 6000, atonik, bahan dasar *Vacin* dan *Went* (VW) medium yang digunakan untuk penanaman eksplan, sukrosa, Kalium Hidroksida (KOH),

*Plant Preservative Mixture* (PPM), Asam Klorida, agar bakto, detergen, dan arang aktif.

### 3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian ini disusun dengan pola dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor . Faktor A larutan atonik yang terdiri dari 3 taraf perlakuan yaitu 0 mL/L (A1), 5 mL/L (A2), dan 10 mL/L (A3). Faktor B konsentrasi PEG 6000 yang terdiri atas 3 taraf perlakuan yaitu 0% (B1), 15% (B2), 30% (B3). Masing-masing unit perlakuan diulang 3 kali dan setiap ulangan terdiri dari 1 planlet anggrek bulan. Notasi perlakuan dan ulangan disajikan pada **Tabel 1** dan tata letak percobaan disajikan pada **Tabel 2**.

**Tabel 1.** Notasi perlakuan dan ulangan

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

**Keterangan :**

a: Larutan Atonik ; 0 mL/L (a1); 5 mL/L (a2); 10 mL/L (a3)

b: PEG 6000 ; 0% (b1); 15% (b2); 30% (b3)

**Tabel 2.** Tata letak percobaan satuan percobaan

|             |             |             |
|-------------|-------------|-------------|
| $a_1b_1u_2$ | $a_2b_2u_1$ | $a_3b_2u_1$ |
| $a_3b_1u_1$ | $a_2b_3u_2$ | $a_2b_1u_3$ |
| $a_1b_1u_3$ | $a_3b_2u_3$ | $a_1b_2u_2$ |
| $a_3b_3u_2$ | $a_2b_1u_1$ | $a_1b_1u_3$ |
| $a_1b_3u_2$ | $a_2b_3u_3$ | $a_2b_2u_2$ |
| $a_3b_1u_3$ | $a_2b_1u_2$ | $a_1b_2u_1$ |
| $a_2b_3u_1$ | $a_3b_2u_3$ | $a_1b_2u_3$ |
| $a_2b_2u_3$ | $a_3b_3u_1$ | $a_1b_1u_1$ |
| $a_1b_3u_1$ | $a_3b_3u_3$ | $a_3b_1u_2$ |

**Keterangan :**

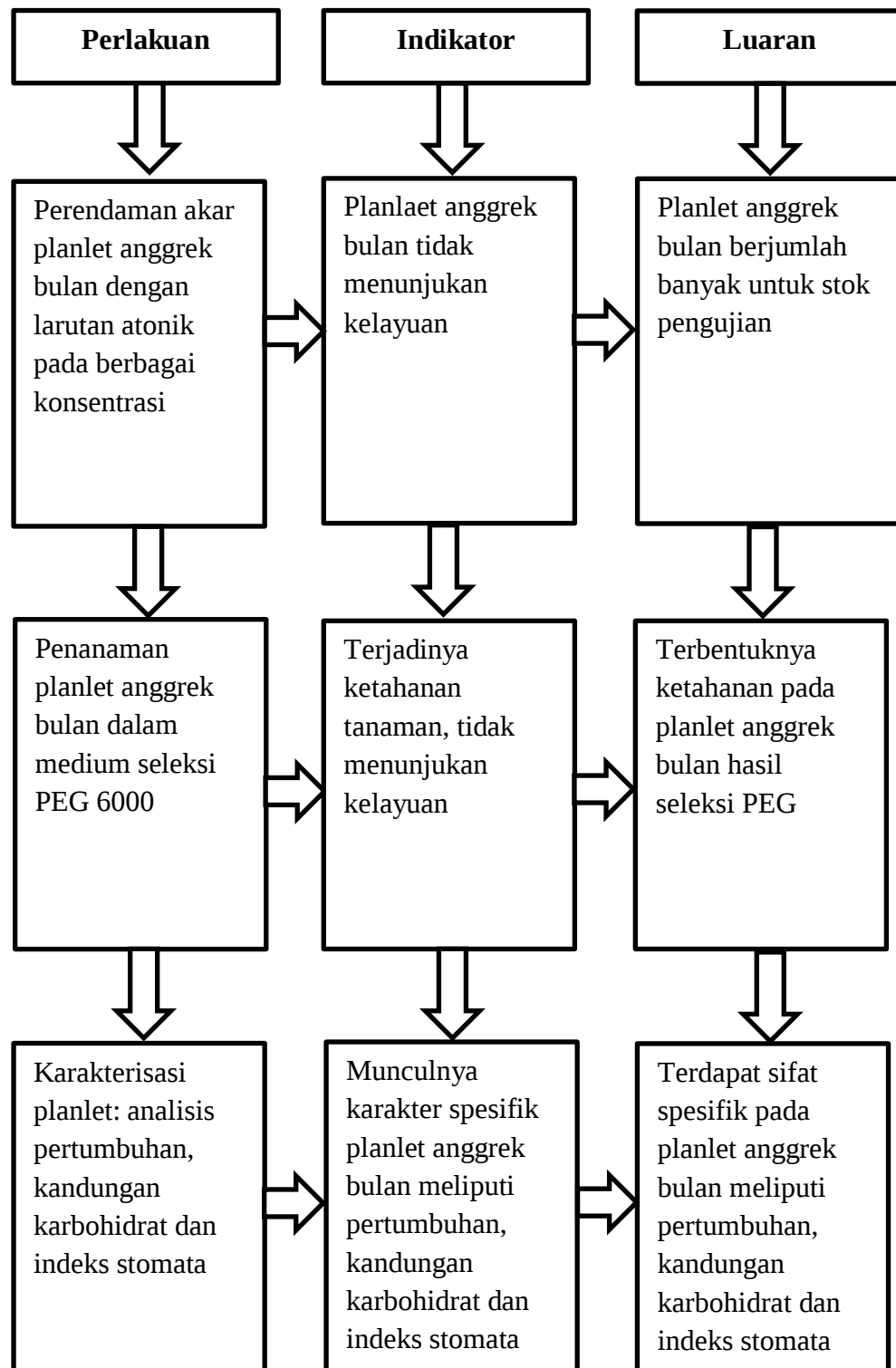
a: Larutan Atonik ; 0 mL/L ( $a_1$ ); 5 mL/L ( $a_2$ ); 10 mL/L ( $a_3$ )

b: PEG 6000 ; 0% ( $b_1$ ); 15% ( $b_2$ ); 30% ( $b_3$ )

U1- U3 : Ulangan 1-ulangan 3

**3.4 Bagan Alir Penelitian**

Penelitian terdiri dari beberapa tahap yaitu : 1) Penentuan kisaran konsentrasi larutan atonik untuk perendaman planlet anggrek bulan sebelum penanaman dalam medium, 2) Penanaman planlet anggrek bulan kedalam medium VW yang sudah ditambahkan PEG 6000 sesuai konsentrasi, 3) Analisis karakter ekspresi spesifik pada planlet anggrek bulan meliputi visualisasi planlet, kandungan karbohidrat dan indeks stomata. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 3 minggu. Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti tercantum pada **Gambar 3.**



**Gambar 3.** Bagan alir penelitian

### 3.5 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa langkah sebagai berikut.

#### 3.5.1 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 *autoclave*. Alat-alat dari bahan gelas dibungkus dengan plastik sedangkan alat-alat logam dan cawan petri dibungkus dengan kertas hvs kemudian dimasukkan kedalam *autoclave* dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 30 menit.

#### 3.5.2 Persiapan Medium Tanam

Medium yang digunakan pada penelitian ini adalah medium *Vacin* dan *Went* (VW) padat. Pembuatan medium sebanyak 500 ml adalah dengan cara memasukan sukrosa 15 gr dan VW 0,83 gr kedalam *beaker glass* kemudian aduk menggunakan spatula. Akuades dimasukan ke dalam *beaker glass* sampai tanda 500 ml kemudian aduk kembali dan diatur pH sampai 5 dengan penambahan KOH jika terlalu asam atau HCl jika terlalu basa kemudian masukan PPM sebanyak 2,5 ml kemudian tambahkan arang 1 gr dan agar 3,5 gr. Larutan medium dipanaskan sampai mendidih dan diaduk lalu medium dituangkan ke dalam botol sebanyak 20 ml/botol. Kemudian sterilisasi medium menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5 psi, suhu 121°C selama 30 menit.

#### 3.5.3 Persiapan Medium Seleksi

Sebelum digunakan, PEG 6000 yang telah dilarutkan dengan akuades pada konsentrasi tertentu disaring menggunakan kertas saring sebanyak 2 kali. Penyaringan dilakukan dalam ruang steril di dalam *LAF Cabinet*. Selanjutnya PEG 6000 ditambahkan ke dalam medium VW yang telah disterilisasi menggunakan *autoclave*. Sebelum digunakan, medium diinkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar (25°C) untuk memastikan bahwa PEG 6000 telah

tersaring dengan baik. Jika dalam waktu 7 hari tidak terjadi kontaminasi pada medium, maka medium dapat digunakan.

#### **3.5.4 Induksi dengan Larutan Atonik**

Larutan atonik dilarutkan terlebih dahulu dengan akuades pada konsentrasi tertentu disaring menggunakan kertas saring sebanyak 2 kali. Penyaringan dilakukan dalam ruang steril di dalam *LAF Cabinet*, kemudian larutan atonik diencerkan sehingga diperoleh 3 konsentrasi yaitu 0 mL/L, 5 mL/L, dan 10 mL/L. Larutan atonik kemudian digunakan untuk merendam planlet anggrek bulan selama 1 menit.

#### **3.5.5 Penanaman Esplan**

Planlet *P. amabilis* ditanam pada masing-masing botol kultur yang berisi medium berisi Vacin dan Went yang telah mengandung PEG 6000. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan setiap ulangan terdiri dari 1 planlet dalam setiap botol kultur. Kemudian diinkubasi pada ruangan dengan penyinaran  $\pm 1000$  lux, 24 jam/hari dan suhu  $\pm 20^\circ\text{C}$

### **3.6 Pengamatan**

Pengamatan dilakukan pada akhir minggu ke-3 inkubasi dan dievaluasi untuk mengetahui konsentrasi PEG 6000 dan Atonik yang optimum untuk seleksi planlet anggrek bulan secara *in vitro*. Setelah 3 minggu inkubasi, planlet yang masih hidup di dalam botol dikarakterisasi berdasarkan parameter sebagai berikut.

#### **3.6.1 Persentase jumlah planlet yang hidup**

Menurut Nurcahyani dkk. (2014) jumlah planlet hidup anggrek bulan dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

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

### 3.6.2 Visualisasi planlet

Visualisasi planlet dapat diamati meliputi warna planlet setelah diberikan perlakuan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 dengan klasifikasi sebagai berikut: hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna coklat dan coklat (Nurchayani dkk., 2012)

### 3.6.3 Analisis Kandungan Karbohidrat

Analisis kandungan karbohidrat terlarut total dilakukan dengan metode fenol-sulfur (Dubois, 1956). Planlet *P. amabilis* diambil dan ditimbang sebanyak 0,1 gram. Kemudian ditumbuk dengan mortar lalu diberi 10 ml akuades, disaring dengan kertas saring *Whatman* no. 1 lalu diamsukan kedalam tabung reaksi. Selanjutnya filtrat diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, kemudian ditambahkan fenol sebanyak 2 ml. Selanjutnya filtrat diamsukan kedalam kuvet dan dibaca pada panjang gelombang 490 nm. Kandungan karbohidrat terlarut total dihitung dengan cara membuat larutan standar glukosa yang terdiri dari beberapa konsentrasi kemudian diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm. Hasil absorbansi larutan standar dibuat persamaan regresi linier sehingga diperoleh persamaan  $Y = ax + b$ . Nilai absorbansi sampel selanjutnya dimasukan sebagai nilai Y sehingga didapatkan nilai x ( $\mu$ /mol)

### 3.6.4 Analisis Indeks Stomata

Daun diambil menggunakan pinset kemudian diberikan cat kuku berwarna bening hingga mengering, kemudian dilapisi selotip, setelah merekat selotip dilepas dan diletakan pada *object glass* kemudian ditutup dengan *cover glass*. Preparat diamati pada 3 bagian daerah yang berlainan. Tiap sel epidermis ditandai dengan (E), stomata ditandai dengan (S). Indeks stomata besarnya dihitung dengan rumus :

$$\frac{S}{E+S} \times 100\%$$

### 3.6.5 Analisis Data

Data dari pertumbuhan planlet *P. amabilis* selama seleksi dengan PEG 6000 dan larutan atonik akan diolah dalam bentuk data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif akan disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan didukung foto. Data kuantitatif dianalisis dengan Analisis Ragam (ANOVA) , kemudian dilanjutkan dengan uji BNT pada taraf nyata 5%

## V. KESIMPULAN

### 5.1 Simpulan

1. Terdapat interaksi antara PEG 6000 dengan konsentrasi 30% dan larutan atonik 0 mL/L terhadap cekaman kekeringan pada persentase planlet hidup, visualisasi planlet, kandungan karbohidrat total dan indeks stomata.
2. Larutan atonik yang optimum untuk pertumbuhan planlet *P.amabilis* yaitu 0 mL/L.
3. Konsentrasi PEG 6000 yang toleran terhadap cekaman kekeringan yaitu 30%
4. Kombinasi perlakuan PEG 6000 30% dan larutan atonik 0 mL/L menunjukkan karakter spesifik
  - a. Secara morfologis planlet yang resisten akan tetap berwarna hijau pada saat terjadi cekaman kekeringan
  - b. Secara fisiologis kandungan karbohidrat total lebih tinggi dari perlakuan lain
  - c. Secara anatomis indeks stomata lebih rendah dari perlakuan lain

### 5.2 Saran

Konsentrasi PEG 6000 perlu ditambahkan untuk mencapai  $LC_{50}$  (*Lethal concentration*) pada planlet *P.amabilis* sebagai seleksi ketahanan tanaman dalam keadaan cekaman kekeringan dan mengidentifikasi karakter spesifik lainnya seperti prolin, dan analisis molekular.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afa, L.O., Purwoko, B.S., Junaedi, A., Hariddjaja, O., dan Dewi, I.S. 2012. Pendugaan Toleransi Padi Hibrida terhadap Kekeringan dengan *Polyethylene Glycol* (PEG) 6000. *Jurnal Agrivigor*.11(2).
- Ai, N.S., dan Banyo, Y. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air Pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*, 11(2):166–173.
- Ai, N.S., Tondais S.M., dan Butarbutar, R. 2006. Evaluasi Indikator Toleransi Cekaman Kekeringan pada Fase Perkecambahan Padi (*Oryza sativa* L.). *Jurnal Ilmiah Sains* 11 (2).
- Anada, P., Muhartini, S., dan Waluyo, S. 2011. Pengaruh Kadar Atonik Terhadap Pertumbuhan Dan Hasil Dua Jenis Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe). *Jurnal Vegetalika*. 1(4).
- Anggraini, N., Faridah, E., dan Indrioko, S. 2015. Pengaruh Cekaman Kekeringan terhadap Perilaku Fisiologis dan Pertumbuhan Bibit Black Locust (*Robinia pseudoacacia*). *Jurnal Ilmu Kehutanan*, 9 (1): 40.
- Arobaya, A. Y. S. (2022). Variasi Morfologi Bunga Anggrek Bulan Hibrida *Phalaenopsis amabilis*: Analisa Karakter dengan Pendekatan Numerik. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 7(8) :70–85.
- Ashari, A., Nurcahyani, E., Qudus, H.I., dan Zulkifli. 2018. Analisis Kandungan Prolin Planlet Jeruk Keprok Batu 55 (*Citrus reticulata* Blanco var. *crenatifolia*) setelah Di induksi Larutan Atonik Dalam Kondisi Cekaman Kekeringan Secara *In Vitro*. *Jurnal Analit*. 11. 69-78.
- Badami, K., dan Amzeri, A. 2010. Seleksi *In Vitro* untuk Toleransi Terhadap Kekeringan pada Jagung (*Zea mays* L.) dengan *Polyethylene Glycol* (PEG). *Agrovigor*. 3(1).
- Banyo, Y. E., Ai, N. S., 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.

- Binawati, K.D. 2012. Pengaruh medium tanam terhadap anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) aklimatisasi dalam plenty. *Jurnal Wahana*. 58 (1): 60-68
- Bustami, M. U. (2011). Penggunaan 2,4-D Untuk Induksi Kalus Kacang Tanah. *Jurnal Medium Litbang Sulteng*. 4 (2): 137-141.
- Cronquist, A. 1981. *An Intergrated System of Clasification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York
- Damayanti, E. 2011. *Untung Besar Budi daya Tanaman Anggrek*. Aksara Publisher. Yogyakarta.
- Darlina., Hasanuddin., dan Rahmatan, H. 2016. Pengaruh Penyiraman Air Kelapa (*Cocos nucifera* L.) terhadap Pertumbuhan Vegetatif Lada (*Piper nigrum* L.). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*, 1(1) : 20–28.
- Djatnika, I. 2012. Seleksi Bakteri Antagonis untuk Mengendalikan Layu *Fusarium* pada Tanaman *Phalaenopsis*. *Jurnal Horikulturat*. 22 (3): 276-284.
- Djazuli, M. 2010. Pengaruh Cekaman Kekeringan terhadap Pertumbuhan dan Beberapa Karakter Morfo-Fisiologis Tanaman Nilam. *ejurnal litbang pertanian*. 21(1): 8-17.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. dan Smith, F. 1956. Colometri method for Determination of Sugars and Related Substance. *Anal. Biochem* 28: 143-145.
- Fauziah, N., Azis, S.A., dan Sukma, D. 2014. Karakterisasi Morfologi Anggrek *Phalaenopsis* sp. Spesies Asli Indonesia. *Agronomi Holtikultura*. 2(1): 86-94.
- Gardner., P, Franklin.1985. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. UI Press. Jakarta.
- Gornik K., M.Grzesik, and 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, B., dan Azhari, C.D. 2010. Karakterisasi Spektrofotometri dan *Scanning Electron Microcopy* (SEM) Sensor Gas dari Bahan Polimer *Poly-Etilene Glycol* (PEG). *Jurnal Sains dan Teknologi*. 3 (2).
- Gunawan, L.W. 2007. *Budidaya Anggrek*. Edisi Revisi. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Harahap, E.R., Siregar, L.A.M., dan Bayu, E.S. 2013. Pertumbuhan Akar Pada Perkecambahan Beberapa Varietas Tomat dengan Pemberian *Polyetilene Glycol* (PEG) secara *In vitro*. *Jurnal Online Agroteknologi*. 1(3).

- Haryanti, S. 2010. Jumlah dan Distribusi Stomata pada Daun Beberapa Spesies Tanaman Dikotil dan Monokotil. *Jurnal Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 18(2).
- Iryani, M., Yusnita., Hapsoro, D., Setiawan, K., dan Karyanto, A. 2020. Aplikasi Benziladenin (BA) dalam Bentuk Pasta Lanolin pada Mata Tunas Tangkai Bunga Efektif Merangsang Pembungaan Ulang pada Anggrek *Phalaenopsis* Hibrida. *J. Agrotek Tropika*, 8(2): 383–390.
- Istiqomah, A. R., Mudyantini, W., dan Anggarwulani, E. 2010. Pertumbuhan dan Struktur Anatomi Rumpun Mutiara (*Hedyotis corymbosa* L. Lamk.) pada Ketersediaan Air dan Intensitas Cahaya Berbeda. *Jurnal Ekosains*, 2(1):55–64.
- Jie, Z., Yuncong, Y., Streeter, J. G., dan Ferree, D.C. 2010. *Pengaruh cekaman kekeringan tanah terhadap fotosintesis , karbohidrat dan penyerapan nitrogen dan phophorus di berbagai bagian daun dan batang Fuji / M . 9EML , bibit apel muda*. 9(33): 5320–5325.
- Kadhimi, A. A., Zain, C. R. C. M., Alhasnawi, A. N., Isahak, A., Ashraf, M. F., Mohamad, A., Doni, F., dan Yusoff, W. M. W. (2016). Effect of irradiation and polyethylene glycol on drought tolerance of MR269 genotype rice (*Oryza sativa* L.). *Asian Journal of Crop Science*, 8(2):52–59.
- Kadir A. 2007. Induksi variasi somaklon melalui iradiasi sinar gama dan seleksi *in vitro* untuk mendapatkan tanaman nilam toleran terhadap cekaman kekeringan. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Karjadi, A., dan Buchory, A. 2008. Sifat Inovasi Dan Aplikasi Teknologi Pengelolaan Terpadu Kebun Jeruk Sehat Dalam Pengembangan Agribisnis Jeruk Di Kabupaten Sambas, Kalimantan Barat. *Jurnal Hortikultura*, 18(4): 380–384.
- Khaerana., Ghulamahdi, M., dan Purwakusumah, E. D. 2008. Pengaruh cekaman kekeringan dan umur panen terhadap pertumbuhan dan kandungan xanthorrhizal temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb.). *Bulgarian Agronomy*, 36: 241- 247.
- Laia, P. 2013. Pengaruh Varietas dan Konsentrasi ZPT Atonik terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Tomat (*Solanum lycopersicum*). *Skripsi*, 54.
- Lakitan, B. 2012. *Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan*. Rajawali Press. Jakarta
- Lapanjang, I., Purwoko, B.S., Hariyadi., Budi S.W.R., dan Melati, Maya. 2008. Evaluasi Beberapa Ekotipe Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) untuk Toleransi Cekaman Kekeringan. *J. Agron. Indonesia* 36: 263-266

- Liu, H.Y., J.Y. Li, Y. Zhao dan K.K. Huang. 2007. Influence of Drought Stress On Gas Exchange and Water Use Efficiency of *Salix psammophila* Growing In Five Places. *Ari. Zone*. 815 – 820.
- Mahajan, S., and Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stress: An overview. *Archives of biochemistry and biophysics* 444: 139-158.
- Man, D., Bao, Y. X., and Han, L. B. 2011. Drought tolerance associate with proline and hormone metabolism in two tall fescue cultivars. *Hort Science* 46(7): 1027-1032.
- Mohammadkhani, N. dan R. Heidari. 2008. Drought-induced Accumulation of Soluble Sugars and Proline in Two Maize Varieties. *World Applied Sciences Journal* 3 (3):448-453.
- Moussa, H. R., and Aziz, S.M.A. 2008. Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. *Australian Journal of Crop Science Southern Cross Journals*, 1(1): 31–36.
- Muliani, Y.N., Damayanti, F., dan Rostini, N. 2014. Seleksi *In Vitro* Enam Kultivar Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Hasil Iradiasi Sinar Gamma Untuk Toleransi Kekeringan Menggunakan Manitol. *Jurnal Agroteknologi Sains*. 1(4): 71- 79.
- Nugroho A. 2010. *Pedoman Pelaksanaan Kultur Jaringan*. Penebar swadaya. Jakarta.
- Nurcahyani, E., Sumardi, I., Hadisutrisno, B., dan Suharyanto, E. 2012. Penekanan perkembangan penyakit busuk batang vanili (*fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*) melalui seleksi asam fusarat secara *in vitro*. *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 12(1):12-22.
- Nurcahyani, E., Hadisutrisno, B., Sumardi, I. dan Suharyanto, E. 2014. Identifikasi galur planlet vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Resisten terhadap infeksi *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* hasil seleksi *in vitro* dengan asam fusarat. *Prosiding seminar Nasional PFI Komda Joglosemar*. 1(1): 272-279.
- Nurcahyani, E., Mutmainah, N.A., Farisi, S., dan Agustrina, R., 2019a. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Menggunakan Metode Fenol-Sulfur Secara *In Vitro*. *Jurnal Analit* 4 (1): 73-80.
- Nurcahyani, E., Sazilly., M.R., Farisi, S., dan Agustrina, R. 2019b. Efek Inokulasi *Rhizoctonia solanii* Terhadap Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Kacang Panjang (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Secara *In Vitro*. *Jurnal Analit* 4 (1): 81-90.

- Orchidspecies.com 2021, (24 Desember). *Phalaenopsis amabilis* [L.] Blume. Diakses pada 24 Desember 2021, dari <http://www.orchidspecies.com/phalamablis.htm>
- Palettri, T. S., Nurcahyani, E., Yulianty., dan Agustrina, R. 2019. Stomata Index of *Cattleya* sp. Lindl., Planlet in Drought-Stress Conditions. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen Dan Keanekaragaman Hayati*, 6 (1):15–19.
- Perdana, K. 2015. Mekanisme tumbuhan menghadapi kekeringan. *Jurnal Pemikiran Penelitian Pendidikan Dan Sains*, 3(6): 186–194.
- Purwati, P. 2012. Pengaruh Macam Medium Dalam Keberhasilan Aklimatisasi Anggrek *Phalaenopsis amabilis* (Anggrek Bulan). *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 17 (2): 132-137
- Puspitaningtyas, D.M. dan Mursidawati. 2010. *Koleksi Anggrek Kebun Raya Bogor*. UPT Balai Pengembangan Kebun Raya-LIPi. Bogor.1(2).
- Putra, V. H. 2009. Budidaya dan Prospek Pemasaran Anggrek Bulan Lokal (*Phalaenopsis amabilis*) di Kebun anggrek Widorokandang Yogyakarta. *Tugas Akhir*. Digilib. uns.ac.id.
- Rahayu, E. S., Guhardja, E., Ilyas, S., dan Sudarsono. 2005. Polyethylene Glycol (PEG) dalam media *in vitro* menyebabkan kondisi cekaman yang menghambat tunas kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.). *Berk Penel Hayati* 11:39-48.
- Rompas, Y., Rampe, H.L., dan Rumondor, M.J. 2011. Struktur Sel Epidermis dan Stomata Daun Beberapa Tumbuhan Suku *Orchidaceae*. *Jurnal Bios Logos*, 1(1).
- Rosyalina, N., Nurcahyani, E., Qudus, H.I., dan Zulkifli. 2018. Pengaruh Larutan Atonik Terhadap Kandungan Karbohidrat Trlarut Total Planlet Jeruk Siam Pontianak (*Citrus nobilis* Lour. Var. *microcarpa* Hassk) Secara *In Vitro*. *Jurnal Analit*. 3 : 61-68
- Rukmana, H. R. 2008. *Budi Daya Anggrek Bulan*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Savitri, E. S. 2010. Pengujian *In Vitro* Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine Max* L. Merr) Toleran Kekeringan Menggunakan Polyethylene Glycol (PEG) 6000 Pada Media Padat Dan Cair. *El Hayyah* 1(2) : 9–13.
- Schachtman, D. P., dan Goodger, J. Q. D. 2008. Chemical root to shoot signaling under drought. *Trends in Plant Science*, 13(6): 281–287.
- Sujinah., Jamil, A. 2016. Mekanisme Respon Tanaman Padi terhadap Cekaman Kekeringan dan Varietas Toleran. *Iptek Tanaman Pangan*, 11(1).

- Sundari, T., dan Atmaja, R.P. 2011. Bentuk Sel Epidermis, Tipe dan Indeks Stomata 5 Genotipe Kedelai pada Tingkat Naungan Berbeda. *Jurnal Biologi Indonesia*, 7(1):67–79.
- Sutjhajo, S.H., Kadir, A., dan Mariska, I. 2007. Efektivitas Polyethylene Glycol sebagai bahan kalus nilam yang diiradiasi sinar gamma untuk toleransi terhadap cekaman kekeringan. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian-Indonesia*. 9: 48-57
- Syiam, R. N., Amalia, L., dan Putri, D. I. 2021. Analisis Perbedaan Bentuk , Ukuran dan Jumlah Stomata Kangkung Air ( *Ipomoea aquatica* Forsskal ) dan Kangkung Darat ( *Ipomoea reptans* Poir ). *Jurnal Life Science* .3(1): 15–25.
- Verslues, P.E., Agarwal, M., Agarwal, S.K., Zhu, J. and Zhu, J.K. 2006. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, and abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*. 45: 523-539.
- Zhu, X.C., Song, F.B., Liu, S.Q., Liu, T.D., and Zhou, X. 2012. Arbuscular mycorrhizae improves photosynthesis and water status of *Zea mays* L. under drought stress. *Plant Soil Environ*. 58(4) :186-191.
- Zlatev, Z., and Lidon, F.C. 2012. An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. *Emir. J. Food Agric*. 24 (1): 57-s72.