

**STUDI *IN VIVO*: KARAKTERISASI TANAMAN VANILI
(*Vanilla planifolia* Andrews) DALAM KEADAAN
CEKAMAN KEKERINGAN MENGGUNAKAN
PEG 6000**

(Tesis)

Oleh:

**INTAN OKTA NABILLA
NPM 2127021014**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

STUDI *IN VIVO*: KARAKTERISASI TANAMAN VANILI (*Vanilla planifolia* Andrews) DALAM KEADAAN CEKAMAN KEKERINGAN MENGGUNAKAN PEG 6000

Oleh:

Intan Okta Nabilla

Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) merupakan tanaman yang masuk dalam Familia Orchidaceae yang memiliki nilai ekonomi tinggi. Tanaman vanili sangat sensitif terhadap kekeringan. Budidaya tanaman vanili di Indonesia mengalami hambatan berupa kekeringan yang berkepanjangan. Cekaman kekeringan merupakan faktor utama penyebab kematian dalam budidaya vanili. Salah satu pendekatan yang paling populer untuk induksi cekaman kekeringan adalah dengan menggunakan zat osmotik dengan berat molekul yang tinggi seperti *Polyethylene glycol* (PEG). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Mengetahui konsentrasi PEG 6000 yang toleran terhadap pertumbuhan tanaman vanili yang resisten terhadap cekaman kekeringan dan menganalisis karakter ekspresi spesifik tanaman vanili yang mengalami cekaman kekeringan. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – Desember 2022 di ruang kultur *in vitro* Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Lampung dan di Desa Srimenganten, Kec. Pulau Panggung, Kab. Tanggamus. Rancangan Penelitian pada penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan konsentrasi PEG 6000 yang terdiri atas empat taraf perlakuan yaitu 0% (A1), 10% (A2), 20% (A3), 30% (A4) dan 40% (A5). Analisis data dilakukan dengan one way ANOVA dengan taraf signifikansi $\alpha = 5\%$ dan dilanjutkan dengan uji Tukey pada taraf signifikansi $\alpha = 5\%$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi PEG 6000 yang toleran terhadap cekaman kekeringan adalah 40%. Semakin meningkat konsentrasi PEG 6000 maka indeks toleransi cekaman dan kandungan klorofil a, b dan total tanaman vanili mengalami penurunan, sedangkan indeks stomata, kandungan karbohidrat terlarut total dan kandungan gula reduksi meningkat.

Kata Kunci: *Vanilla planifolia* Andrews., Cekaman Kekeringan, PEG 6000

ABSTRACT

***IN VIVO* STUDY: CHARACTERIZATION OF VANILLA (*Vanilla planifolia* Andrews) IN CONDITION DROUGHT SUPPORT USING PEG 6000**

Oleh:

Intan Okta Nabilla

Vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews) is a plant that belongs to the Orchidaceae family which has high economic value. Vanilla plants are very sensitive to drought. Cultivation of vanilla plants in Indonesia faces obstacles in the form of prolonged drought. Drought stress is the main factor causing mortality in vanilla cultivation. One of the most popular approaches for drought stress induction is to use high molecular weight osmotic agents such as polyethylene glycol (PEG). This study aims to determine the concentration of PEG 6000 that is tolerant to the growth of vanilla plants which are resistant to drought stress and to analyze the specific expression characters of vanilla plants which experience drought stress. This research was carried out in August - December 2022 at the Botanical Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung and in Srimenganten Village, sub district of Pulau Panggung, Tanggamus regency. The research design in this study was a completely randomized design (CRD) with PEG 6000 concentration consisting of four treatment levels, namely 0% (A1), 10% (A2), 20% (A3), 30% (A4) and 40% (A5). Data analysis was performed using one-way pattern ANOVA with a significance level of $\alpha = 5\%$ and continued with the Tukey test at a significance level of $\alpha = 5\%$. The results showed that the concentration of PEG 6000 which was tolerant to drought stress was 40%. As the PEG 6000 concentration increased, the stress tolerance index and chlorophyll a, b and total vanilla content decreased, while the stomatal index, total dissolved carbohydrate content and reducing sugar content increased.

Kata Kunci: *Vanilla planifolia* Andrews., Drought Strees, PEG 6000

**STUDI *IN VIVO*: KARAKTERISASI TANAMAN VANILI
(*Vanilla planifolia* Andrews) DALAM KEADAAN
CEKAMAN KEKERINGAN MENGGUNAKAN
PEG 6000**

Oleh

INTAN OKTA NABILLA

Tesis

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
Magister Sains**

Pada

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



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Tesis : **STUDI IN VIVO: KARAKTERISASI TANAMAN
VANILI (*Vanilla planifolia* Andrews) DALAM
KEADAAN CEKAMAN KEKERINGAN
MENGUNAKAN PEG 6000**

Nama Mahasiswa : **Intan Okta Nabilla**

NPM : **2127021014**

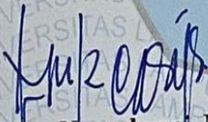
Program Studi : **Magister Biologi**


Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



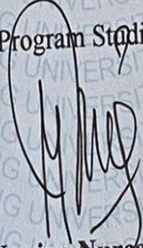
Pembimbing I

Pembimbing II


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


Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, M.S.
NIP. 196101121991031002

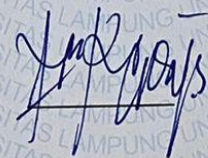
2. Ketua Program Studi Magister Biologi


Dr. Nuning Nureahyani, M.Sc.
NIP. 196603051991032001

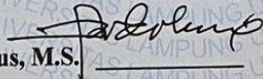
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

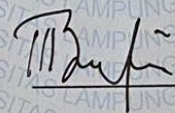
Ketua : **Dr. Endang Nurcahyani, M. Si.**



Sekretaris : **Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, M.S.**



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



Bukan Pembimbing 2 : **Dr. Sri Wahyuningsih, M. Si.**



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.

NIP. 197110012005011002



3. Direktur Program Pascasarjana

Prof. Dr. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T.

NIP. 197104151998031005

Tanggal Lulus Ujian Tesis: **21 Maret 2023**



PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini adalah:

Nama : Intan Okta Nabilla

NPM : 2127021014

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 bukan hasil plagiat 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, 06 Maret 2023
Pembuat Pernyataan,



Intan Okta Nabilla
NPM. 2127021014

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Desa Air Nanningan pada tanggal 15 Oktober 1998. Penulis merupakan anak pertama dari pasangan Bapak Munasir dan Ibu Sapurah, S. Pd. Penulis tinggal di Dusun Mataram Utara, RT 001 RW 003 Desa Air Nanningan, Kecamatan Air Nanningan, Kabupaten Tanggamus. Nomor *handpone* penulis yaitu 081367651606. Penulis mengawali Pendidikan formal di TK Dharmawanita Air Nanningan (2002-2004), SD Negeri 1 Air Nanningan (2004-2010), SMP Negeri 1 Air Nanningan (2010-2013), SMA Negeri 1 Pringsewu (2013-2016).

Penulis menempuh pendidikan sarjana di Pendidikan Biologi Jurusan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (2016-2020). Pada tahun 2021, penulis terdaftar sebagai mahasiswi Jurusan Biologi Program Studi Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

MOTTO

“Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan.”

(QS.Al-Insyirah: 6)

“Barang siapa memberi kemudahan kepada orang yang kesulitan maka Allah memberi kemudahan padanya di dunia dan akhirat. Barang siapa merintis jalan mencari ilmu maka Allah akan memudahkan baginya jalan ke surga.”

(HR. Muslim)

“Dan janganlah kamu berputus asa dari rahmat ALLAH. Sesungguhnya tiada berputus dari rahmat ALLAH melainkan orang-orang yang kufur”

(QS. Yusuf : 87)

“Jangan takut membuat sebuah kesalahan. Tapi pastikan anda tidak melakukakesalahan yang sama untuk kedua kali”

(Akio Morita)

"Struggle that you do today is the single way to build a better future."
(Intan Okta Nabilla)



Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah hirobbil 'alamin, dengan mengucap rasa syukur kepada Allah SWTatas segala limpahan rahmad, rezeki dan karunia yang Engkau berikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Teriring doa, rasa syukur dan segala kerendahan hati. Dengan segala cinta dan kasih sayang ku persembahkan karya ini untuk orang-orang yang sangat berharga dalam hidupku:

Ayahku (Munasir) dan Ibuku (Sapurah, S.Pd)

Kedua orangtuaku terima kasih atas segala ilmu yang telah kalian berikan danatas segala dukungan untuk menguatkanaku yang senantiasa mencintaiku dan menyayangiku dengan penuh kasih sayang dengan penuh kesabaran dalam mendidik, merawatku sedari kecil, mendoakanku agar aku menjadi orang yangsukses, mengorbkan segalanya untuk kebahagiaanaku dan cita-citaku, menasehatiku agar aku menjadi pribadi yang lebih baik lagi dan tidak pernah menyera h.

Adik Perempuanaku (Berliana Putri)

yang selalu memberikan semangat, kasih sayang dan menghiburkuketika aku sedang merasa sedih.

Para Pendidik

Para dosen yang telah memberikan ilmu, nasihat, bimbingan, kesabaran, waktu dan arahan yang telah diberikan.

Almamater tercinta, Universitas Lampung

SANWANCANA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Magister Sains Pada Program Studi Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Tesis ini berjudul “**Studi *In Vivo*: Karakterisasi Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Dalam Keadaan Cekaman Kekeringan dengan Menggunakan PEG 6000**”. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M. Si. yang didanai oleh Hibah Penelitian *Professorship*, LPPM, Universitas Lampung, berdasarkan Surat Penugasan Penelitian *Professorship* dengan Nomor Kontrak: 478/UN26.21/PN/2022 Tanggal 17 Mei 2022.

Penulis menyadari dalam penyusunan tesis ini tidak terlepas dari peranan dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M. Si. selaku pembimbing 1 yang telah memberikan bimbingan, saran, bantuan, nasihat, motivasi serta selalu menyemangati dalam proses penyelesaian tesis ini.
2. Bapak Profesor Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, M. S. selaku pembimbing 2 yang telah memberikan bimbingan, saran serta motivasi hingga tesis ini terselesaikan.
3. Ibu. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung.

4. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Plt. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
5. Bapak Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T., selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung.
6. Bapak Jani Master, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
7. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M. Sc., selaku Ketua Program Studi Magister Biologi Universitas Lampung.
8. Bapak Dr. Bambang Irawan, M. Sc., selaku pembahas 1 yang telah memberikan bimbingan, saran serta motivasi dalam proses penyelesaian tesis ini.
9. Ibu Dr. Sri Wahyuningsih, M.Si., selaku pembahas 2 yang telah memberikan saran-saran perbaikan, nasihat serta motivasi hingga tesis ini dapat terselesaikan.
10. Bapak dan Ibu Dosen seluruh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu kepada penulis.
11. Okta Rianda yang selalu memberikan dukungan, semangat dan motivasi dalam menyelesaikan tesis ini.
12. Teman seperjuangan selama penelitian Rina Maryani yang telah banyak memberikan bantuan, kebersamaan dan kerjasamanya dalam melaksanakan penelitian.
13. Lulu Windra Yuliana yang selalu setia memberikan semangat dan motivasi dalam menyelesaikan tesis.
14. Rekan-rekan Magister Biologi angkatan 2021 yang telah menemani dari awal kuliah dan selalu memberikan dukungan serta semangat dalam menempuh pembelajaran
15. Adik-adik S1 Biologi Terapan (Rara, Ratna, Caca, Tarisa, Nisa dan Herlina) yang telah menemani dan memberikan semangat selama proses penelitian.
16. Almamater Universitas Lampung yang tercinta.

Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu atas bantuan selama berlangsungnya penelitian hingga terselesaikannya tesis ini. Semoga Allah SWT memberikan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua.

Akhir kata, penulis berharap semoga tulisan ini dapat berguna dan bermanfaat bagi seluruh pihak.

Bandar Lampung, 06 Maret 2023

Penulis



Intan Okta Nabilla

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Kerangka Pikir	4
D. Hipotesis Penelitian.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Klasifikasi Tanaman Vanili	6
B. Morfologi Tanaman Vanili	6
C. Syarat Tumbuh Vanili	8
D. Cekaman Kekeringan	10
E. <i>Polyethylene Glycol</i> (PEG)	10
F. Biosintesis Klorofil	11
G. Stomata	13
H. Karbohidrat	14
I. Gula Reduksi	15
III. METODE PENELITIAN	
A. Waktu dan Tempat	18
B. Alat dan Bahan.....	18
C. Rancangan Percobaan.....	18
D. Bagan Alir Penelitian	19

E. Pelaksanaan Penelitian	20
1. Persiapan Lahan dan Medium Tanam	20
2. Pembuatan PEG	21
3. Penanaman Tanaman Vanili	21
4. Pengamatan	21
a. Persentase Jumlah Tanaman yang Hidup	21
b. Visualisasi Tanaman	21
c. Indeks Stomata	22
d. Indeks Toleransi Cekaman	22
e. Analisis Kandungan Klorofil	22
f. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total	23
g. Analisis Kandungan Gula Reduksi	24
5. Analisis Data	25

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Persentase Jumlah Tanaman Vanili yang Hidup dan Visualisasi Tanaman Vanili.....	26
B. Indeks Stomata.....	31
C. Indeks Toleransi Cekaman	36
D. Analisis Kandungan Klorofil	37
E. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total	44
F. Analisis Kandungan Gula Reduksi	47

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan.....	52
B. Saran.....	52

DAFTAR PUSTAKA.....	53
----------------------------	-----------

LAMPIRAN	62
-----------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tata Letak Satuan Percobaan.....	19
2. Persentasi Jumlah Tanaman Vanili Hasil Seleksi denga Menggunakan PEG 6000 pada Berbagai Konsentrasi	27
3. Persentasi Visualisasi Tanaman Vanili Hasil Seleksi denga Menggunakan PEG 6000 pada Berbagai Konsentrasi	28
4. Indeks Stomata Tanaman Vanili	33
5. Indeks Toleransi Cekaman (ITC) Tanaman Vanili	36
6. Kandungan Klorofil a Tanaman Vanili	38
7. Kandungan Klorofil b Tanaman Vanili	40
8. Kandungan Klorofil Total Tanaman Vanili.....	42
9. Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Tanaman Vanili	45
10. Perbandingan Konsentrasi Gula Reduksi dan Abosrbansi	47
11. Hasil Karakterisasi Kandungan Gula Reduksi Tanaman Vanili dengan Penambahan PEG 6000 Pada Berbagai Konsentrasi	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Kimia PEG	10
2. Bagan Alir Penelitian	20
3. Tanaman Vanili yang Ditanam Pada Media Tanah dengan Penambahan PEG 6000 Berbagai Konsentrasi Pada Minggu Keempat	29
4. Permukaan bawah daun tanaman vanili, menunjukkan stomata (A) tidak terimbas PEG 6000, (B) terimbas PEG 6000 dengan konsentrasi 40	32
5. Kurva Regresi Hubungan Indeks Stomata Tanaman Vanili dengan Penambahan PEG 6000 dengan Berbagai Konsentrasi	34
6. Kurva Regresi Hubungan Kandungan Klorofil a Tanaman Vanili dengan Penambahan PEG 6000 Pada Berbagai Konsentrasi.....	39
7. Grafik Kandungan Klorofil b Tanaman Vanili dengan Penambahan PEG 6000 Pada Berbagai Konsentrasi	41
8. Grafik Kandungan Klorofil Total Tanaman Vanili dengan Penambahan PEG 6000 Pada Berbagai Konsentrasi	43
9. Grafik Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Tanaman Vanili dengan Penambahan PEG 6000 Pada Berbagai Konsentrasi	45
10. Kurva Standar Gula Reduksi	48
11. Grafik Kandungan Gula Reduksi Tanaman Vanili dengan Penambahan PEG 6000 Pada Berbagai Konsentrasi	50

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) merupakan tanaman yang masuk dalam Familia Orchidaceae. Tanaman vanili di Indonesia banyak dibudidayakan oleh masyarakat melalui perkebunan rakyat. Pada tahun 2020, luas areal penanaman tanaman vanili mencapai 19.920 ha dengan produksi mencapai 1.421 ton. Lampung merupakan provinsi penghasil vanili terbesar di Pulau Sumatera dengan luas penanaman mencapai 479 ha dengan produksi mencapai 63 ton pada tahun 2014 (BPS, 2020). Tanaman vanili di Indonesia digemari oleh banyak konsumen, baik di dalam negeri maupun dari luar negeri. Hal ini disebabkan karena kualitas vanili Indonesia yang lebih unggul dibandingkan vanili Mexico, Amerika Serikat, Madagaskar yang juga terkenal sebagai penghasil vanili yang cukup berkualitas (Lawani, 2013).

Vanili adalah tanaman yang buahnya dapat menghasilkan bubuk vanili yang digunakan sebagai pengharum makanan (Srikanth *et al.*, 2013). Batang vanili dapat digunakan sebagai obat kembung, muntah-muntah, buang air besar serta muntah darah. Kandungan kimia yang terkandung di dalam batang, daun dan buahnya adalah fenol, saponin dan polifenol. Efek farmakologis yaitu antipiretik (Setyaningsih dkk., 2017). Selain itu, Vanili merupakan tanaman yang memiliki kandungan vanilin, sehingga biasa dimanfaatkan sebagai bahan campuran dalam kosmetik, makanan, minuman, dan aromaterapi. vanili juga dapat dijadikan sebagai terapi aroma apabila dikombinasikan dengan madu yang dapat menambah nafsu makan,

meningkatkan daya tahan dan stamina tubuh serta memperlancar peredaran darah (Lestari dan Wijayani, 2022).

Tanaman vanili merupakan salah satu tanaman rempah yang bernilai ekonomi cukup tinggi dan berorientasi ekspor. Kebutuhan dunia akan vanili sangat tinggi seiring dengan berkembangnya industri berbasis vanili sebagai komoditas ekspor yang cukup berperan dalam mendatangkan devisa bagi negara, maupun sebagai sumber pendapatan petani sehingga perlu mendapat perhatian dalam pengembangannya ataupun budidayanya (Nurcahyani, 2022). Perbanyak vanili akan berhasil dengan baik bila didukung oleh teknologi yang baik pula. Teknologi yang mendukung pengembangan vanili telah banyak dihasilkan namun belum sepenuhnya diadopsi oleh petani di dalam pengusahaan tanaman ini (Abidin, 2019).

Tanaman vanili sangat sensitif terhadap kekeringan. Budidaya tanaman vanili di Indonesia mengalami hambatan berupa kekeringan yang berkepanjangan (Daryanti dan Haryuni, 2017). Jika kekeringan yang terjadi secara terus menerus dan tidak diiringi dengan air maka dapat mengakibatkan kematian pada tanaman vanili yang disebabkan oleh pangkal batang yang terputus akibat rusaknya akar (Tombe, 2010). Provinsi Lampung memiliki pola hujan musiman, musim kering dan musim hujan. Curah hujan yang terjadi di Lampung sejak tahun 1990-an cenderung mengalami penurunan sehingga tidak dapat memenuhi kebutuhan air untuk pertanian (Manik dkk., 2014).

Cekaman kekeringan merupakan faktor utama penyebab kematian dalam budidaya vanili. Kekeringan pada tanaman vanili dapat disebabkan karena kelembapan yang rendah dan ketersediaan air yang kurang (Sinaga, 2015). Kondisi kekurangan air akan memicu stres biologis yang dapat mengganggu proses fisiologis dan aktivitas fungsional pada organisme. Kekurangan air dapat mengurangi potensi air dan turgor sel tanaman, sehingga meningkatkan konsentrasi zat terlarut dalam matriks sitosol dan

ekstraseluler. Akibatnya, sel pembesaran menurun menyebabkan penghambatan pertumbuhan dan kegagalan reproduksi. Diikuti akumulasi asam absisat (ABA) dan osmolit yang kompatibel seperti prolin, yang menyebabkan layu (Matondang dan Nurhayati, 2022). Perubahan yang terjadi seperti pengurangan volume sel, penurunan luas daun, penebalan daun, adanya rambut pada daun, perubahan ekspresi gen, perubahan metabolisme karbon dan nitrogen, perubahan aktivitas enzim dan hormon, peningkatan sensitivitas stomata dan penurunan laju fotosintesis (Ai dan Banyo, 2011).

Penggunaan varietas unggul yang tahan terhadap cekaman kekeringan merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi kondisi iklim yang selalu mengalami perubahan. Salah satu pendekatan yang paling populer untuk induksi cekaman kekeringan adalah dengan menggunakan zat osmotik dengan berat molekul yang tinggi seperti *Polyethylene glycol* (PEG) (Turkan *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan didapatkan hasil bahwa tanaman yang resisten terhadap cekaman kekeringan seperti pada nilam (Djazuli, 2010), padi gogo (Lubis dan Widanarko, 2017), kacang tanah (Yudiwanti dkk., 2018) dan jagung (Badami dan Amzeri, 2010).

Ashari dkk., (2018) melakukan penelitian dengan menggunakan PEG 6000 sebagai senyawa selektif untuk mendapatkan tanaman yang tahan terhadap kekeringan pada jeruk keprok batu 55. Verslues *et al.*, (2016) penelitian dengan menggunakan PEG dengan bobot molekul ≥ 6000 untuk mengetahui pengaruh cekaman air terhadap pertumbuhan padi. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa penggunaan PEG 6000 dengan konsentrasi 25 % dapat mengetahui varietas padi yang toleran terhadap kekeringan (Afa dkk., 2013). PEG 6000 juga digunakan untuk menginduksi cekaman kekeringan pada planlet buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) dan planlet kacang panjang (*Vigna unguiculata* L.) (Nurchayani dkk., 2019).

Menurut Verslues *et al.* (2016), PEG merupakan bahan yang terbaik untuk mengontrol potensial air dan tidak dapat diserap tanaman. Rahayu dkk. (2004) mengemukakan bahwa PEG yang larut sempurna dalam air mempunyai kemampuan dapat menurunkan potensial air dan diharapkan sebagai kondisi selektif untuk mengetahui respon jaringan yang ditanam terhadap cekaman kekeringan serta mengisolasi sel atau jaringan varian yang mempunyai toleransi terhadap cekaman sehingga dapat digunakan untuk menstimulasi besarnya potensial air tanah (Badami dan Amzeri, 2010). PEG 6000 banyak dimanfaatkan sebagai komponen seleksi pada berbagai macam jenis tanaman yang dapat menurunkan pertumbuhan tanaman dan menghasilkan genotip–genotip baru yang tahan terhadap kondisi cekaman kekeringan (Faisal *et al.*, 2019).

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah:

1. Menentukan konsentrasi PEG 6000 yang toleran terhadap pertumbuhan tanaman vanili yang resisten terhadap cekaman kekeringan.
2. Menganalisis karakter ekspresi tanaman vanili yang mengalami cekaman kekeringan.

C. Kerangka Pemikiran

Vanili merupakan tanaman yang masuk dalam familia Orchidaceae yang banyak dibudidayakan oleh masyarakat melalui perkebunan rakyat.

Tanaman vanili merupakan salah satu tanaman rempah yang bernilai ekonomi cukup tinggi dan berorientasi ekspor.

Pertumbuhan vanili dipengaruhi oleh lingkungan sekitar seperti ketersediaan air, curah hujan dan suhu. Tanaman vanili memerlukan tingkat kelembapan yang tepat agar dapat tumbuh dengan baik. Ketersediaan air yang rendah menyebabkan suplai air di daerah perakaran semakin berkurang sehingga menghambat proses penyerapan air oleh akar tanaman akibat potensial air dalam tumbuhan. Defisit air mempengaruhi pertumbuhan vegetatif tanaman.

Proses ini pada sel tanaman ditentukan oleh tegangan turgor. Hilangnya turgiditas dapat menghentikan pertumbuhan sel (penggandaan dan pembesaran) akibatnya pertumbuhan tanaman terhambat sehingga perlu dilakukan penelitian untuk memperoleh tanaman vanili yang tahan terhadap kekeringan. Salah satu alternatif yang dilakukan untuk menyeleksi tanaman vanili yaitu menggunakan PEG 6000 untuk mendapatkan tanaman yang toleran terhadap cekaman kekeringan. Tanaman vanili yang dapat tumbuh setelah diinduksi larutan PEG 6000 dalam berbagai konsentrasi diduga mampu bertahan dalam kondisi kekeringan.

D. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Terdapat konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk pertumbuhan tanaman vanili yang resisten terhadap cekaman kekeringan.
2. Karakter ekspresi muncul pada tanaman vanili yang mengalami cekaman kekeringan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Klasifikasi Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews)

Klasifikasi tanaman vanili menurut Cronquist (1981) sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Classis	: Liliopsida
Ordo	: Aspragales
Familia	: Orchidaceae
Genus	: <i>Vanilla</i>
Species	: <i>Vanilla planifolia</i> Andrews

B. Morfologi Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews)

Tanaman panili termasuk dalam kelas monokotil yang akar utamanya berada pada dasar batang, bercabang, dan tersebar pada lapisan tanah yang menyebabkan sistem perakarannya dangkal. Akar vanili terdiri dari akar perekat, akar gantung dan akar tanah (Nurchayani, 2022). Akar yang keluar dari buku jumlahnya 1-3 dan letaknya berlawanan dengan arah tumbuh daun. Selain untuk melekatkan diri, akar juga berfungsi untuk memanjatnya tanaman (Hidayat dan Hariyadi, 2015).

Batangnya berbuku-buku, berkelok-kelok dan mudah patah, percabangan hampir tidak ada, bila ada hanya 1-2 cabang saja. Batang vanili berbentuk silindris dengan permukaan licin dan diameter 1 – 2 cm. Batang vanili memiliki warna hijau, mempunyai ruas dan buku, tidak dapat menegakkan

batangnya sendiri dan memerlukan tonggak atau pohon untuk tempat melekat (Darmawan, 2015). Percabangan dapat terjadi apabila pucuk batang dipotong, dilengkungkan ke bawah atau ke atas maupun tanaman terluka. Tanaman yang telah berumur 2-2,5 tahun dan dipotong atau patah pada pucuknya akan mengeluarkan cabang-cabang calon bunga. Cabang ini sering disebut sulur produksi (Hadisutrisno, 2012).

Tanaman vanili memiliki daun dengan pertulangan yang sejajar yang berbentuk jorong dan memanjang dengan serta ujung daun meruncing, pangkal daun membulat dan tepi daun rata serta letaknya berselang-seling (Nurchayani, 2022). Sistem pertulangan daun vanili terlihat ketika tanaman vanili sudah tua atau mengering, sedangkan pada waktu daun masih muda tulang daun tidak jelas terlihat. Daun vanili merupakan daun sukulen yang memiliki warna hijau terang. Serta merupakan daun tunggal dengan letak berselang-seling di masing-masing ruasnya. (Hidayat dan Hariyadi, 2015).

Bunga vanili tidak mampu melakukan penyerbukan sendiri dikarenakan kepala putik tertutup oleh lamela bunga secara keseluruhan, sehingga harus dibantu penyerbukannya (Nurchayani, 2022). Bunga vanili berwarna hijau kekuningan dengan diameter 10 cm. Bunga vanili keluar dari ketiak daun, bunga bersifat hermaphrodit, tangkai bunga sangat pendek. Bunga memiliki tiga kelopak yang bentuknya hampir sama. Kelopak atas disebut dorsalin dan kedua kelopak lainnya disebut kelopak lateralis. Selain kelopak, ada tiga mahkota saat bunga masih kuncup, mahkota terbungkus oleh kelopak. Dua helai mahkota mempunyai bentuk yang sama, sedangkan bentuk lainnya berbeda yang bermodifikasi menjadi bentuk terompet. Bunga vanili mempunyai putik yang bersatu dengan benang sari (Mochtar, 2012).

Buah vanili berbentuk polong yang dikenal dengan *beam*, dengan panjang antara 12 – 25 cm dengan tebal 12 – 14 mm, buah yang kering beraroma karena kandungan vanillin didalamnya (Nurchayani, 2022). Bunga vanili memiliki putik yang berisi cairan perekat, sehingga bila tepung sari

diletakkan akan segera menempel dan terjadi pembuahan. Buah vanili jika dibiarkan masak dipohon maka buah akan pecah menjadi dua bagian dan menghasilkan aroma vanili (Erona, 2016).

C. Syarat Tumbuh Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews)

Tanaman vanili dapat tumbuh dengan baik pada daerah tropis dengan tipe iklim panas dan lembab dengan suhu udara berkisar 20 °C-38 °C, curah hujan antara 1000-2000 mm/tahun (Nurchayani, 2022). Tanaman vanili dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah asalkan tanah tersebut memiliki sifat fisik yang baik seperti mempunyai drainase yang baik, bertekstur ringan dan kaya bahan organik. Tanah dengan bahan organik yang tinggi sangat baik untuk tanaman vanili karena sifat perakarannya yang dangkal dan peka terhadap kemarau panjang. Bahan organik penting untuk meningkatkan daya menahan air dan memperbaiki sifat fisik tanah. pH tanah yang cocok untuk tanaman vanili yaitu pH netral (pH 6,5-7,0) (Nurholis, 2017).

Vanili dapat tumbuh dan berproduksi mulai dari daerah dengan ketinggian 0-1200 m dpl. Untuk tujuan komersial, tanaman vanili sebaiknya diusahakan pada ketinggian 0 – 600 m dpl. Tanaman vanili merupakan tanaman yang peka terhadap sinar matahari secara langsung, oleh karena itu diperlukan pohon naungan. Pohon naungan yang dipakai sebaiknya pertumbuhannya cepat dan rimbun, mempunyai perakaran yang dalam sehingga tidak bersaing dengan vanili dan yang paling penting yaitu pohon yang daunnya tidak gugur pada musim kemarau. Cahaya yang terlalu banyak akan menyebabkan daun tanaman berwarna kuning dan lemah. Sebaliknya keadaan yang terlalu teduh akan mengakibatkan tanaman mudah terserang patogen (Hadisutrisno, 2012).

Intensitas radiasi matahari yang dibutuhkan oleh tanaman panili antara 30-50% (Nurchayani, 2022). Cahaya sangat diperlukan untuk pertumbuhan dan produksi tanaman. Pada tanaman vanili, cahaya menentukan proses

pembungaan dan pembentukan buah. Kebutuhan cahaya pada tanaman vanili berbeda pada setiap fase pertumbuhan. Pada fase vegetatif, diperlukan cahaya yang lebih rendah dibandingkan fase produktif. Tanaman vanili tidak dapat tumbuh optimal bila tingkat naungan terlalu tinggi atau bila cahaya kurang. Sebaliknya, jika tingkat naungan terlalu rendah dapat mendorong berkembangnya penyakit busuk pangkal batang (Nurholis, 2017).

Kondisi lingkungan (lahan dan iklim) sangat menentukan dalam pengembangan tanaman vanili. Iklim meliputi bulan kering, curah hujan dan intensitas cahaya. Supaya dapat tumbuh dan menghasilkan pertumbuhan yang baik, vanili memerlukan iklim 3-5 bulan kering dan 7-9 bulan basah. Sedangkan jumlah curah hujan yang baik, untuk pertumbuhan tanaman vanili berkisar 1500- 2000 mm/tahun. Kelembaban udara yang diperlukan untuk pertumbuhan tanaman vanili yaitu 65 – 75 %. Bulan kering diperlukan untuk mendorong pembungaan. Vanili yang ditanam pada lahan yang tidak memiliki bulan kering sulit berbunga. Curah hujan yang tinggi menyebabkan lingkungan menjadi lembab dan dapat mengakibatkan tanaman mudah tertular penyakit busuk batang vanili. Di lain pihak, curah hujan yang sangat rendah menyebabkan tanah kekurangan air dan menghambat pertumbuhan tanaman (Rosman dan Rusli, 2014).

D. Cekaman Kekeringan

Cekaman kekeringan merupakan istilah untuk menyatakan bahwa tanaman mengalami kekurangan air akibat keterbatasan air dari lingkungannya yaitu media tanam (Mathius dkk., 2011). Defisit air langsung memengaruhi pertumbuhan vegetatif tanaman. Proses ini pada sel tanaman ditentukan oleh tegangan turgor. Hilangnya turgiditas dapat menghentikan pertumbuhan sel (penggandaan dan pembesaran) akibatnya pertumbuhan tanaman terhambat (Jumin, 2016).

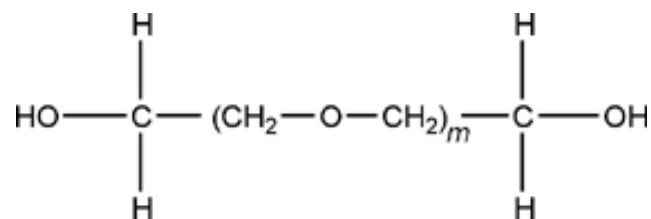
Menurut Levit (2014) dan Bray (2017) mengemukakan bahwa cekaman kekeringan pada tanaman dapat disebabkan oleh kurangnya suplai air di

daerah perakaran dan permintaan air yang berlebihan oleh daun akibat laju evapotransporasi melebihi laju absorpsi air. Ketersediaan air yang rendah menyebabkan suplai air di daerah perakaran semakin berkurang sehingga menghambat proses penyerapan air oleh akar tanaman akibat potensial air dalam tumbuhan. Parameter yang terlihat pada kondisi kekeringan yaitu pada fase pertumbuhannya vegetatifnya yang berupa ukuran daun yang kecil, berkurangnya diameter batang dan berkurangnya bobot tanaman (Jamaludin dan Ranchiano, 2021).

E. *Polyethylene Glykol (PEG)*

Senyawa PEG merupakan polimer yang dapat memodifikasi potensial osmotik suatu larutan nutrisi kultur dan menyebabkan kekurangan air pada tanaman. PEG dengan bobot molekul lebih dari 4000 dapat menginduksi *stress* air pada tanaman dengan mengurangi potensial air pada larutan nutrisi tanpa menyebabkan keracunan (Erni dkk., 2013). Menurut Rahayu dkk (2005). Senyawa PEG dapat menurunkan potensial osmotik larutan melalui aktivitas matriks sub-unit etilena oksida yang mampu mengikat molekul air dengan ikatan hidrogen sehingga dapat mengkondisikan cekaman kekeringan.

Struktur kimia dari molekul PEG sebagai berikut.



Gambar 1. Struktur Kimia PEG

(Sumber: Graham, 1992)

Senyawa PEG dengan berat molekul 6000 dipilih karena senyawa ini mampu bekerja lebih baik pada tanaman daripada PEG dengan berat molekul yang lebih rendah (Michel and Kaufman, 2013). Interaksi PEG dan air terjadi melalui ikatan hidrogen antara molekul air dengan kelompok eter

dari polimer. Senyawa PEG dapat menurunkan potensial osmotik larutan melalui aktivitas matriks sub-unit etilena oksida yang mampu mengikat molekul air dengan ikatan hidrogen sehingga dapat mengkondisikan cekaman kekeringan (Rahayu dkk., 2005).

Ukuran molekul dan konsentrasi PEG dalam larutan menentukan besarnya potensial osmotik larutan yang terjadi. Sebagai agen penyeleksi PEG 6000 dilaporkan lebih unggul dibandingkan dengan monitol, sorbitol atau garam karena tidak bersifat toksik terhadap tanaman, tidak dapat diserap oleh akar dan secara homogen dapat menurunkan potensial osmotik larutan (Rahayu, 2005), tidak larut dalam air yang memiliki suhu tinggi dan dapat digunakan sebagai agen penyeleksi sifat ketahanan gen terutama gen toleran terhadap kekeringan (Haris, 2017).

F. Biosintesis Klorofil

Pada tumbuhan tingkat tinggi, klorofil a dan klorofil b merupakan pigmen utama fotosintetik yang berperan menyerap cahaya violet, biru, merah dan memantulkan cahaya hijau. Molekul klorofil adalah suatu derivat porfirin yang mempunyai struktur tetrapirrol siklis dengan satu cincin pirol yang sebagian tereduksi. Inti tetrapirrol mengandung atom Mg non-ionik yang diikat oleh dua ikatan kovalen, dan memiliki rantai samping (Riyono, 2017).

Sintesis klorofil terjadi melalui fotoreduksi protoklorofilid menjadi klorofilid a dan diikuti dengan esterifikasi fitol untuk membentuk klorofil a yang dikatalisis enzim klorofilase. Perubahan protoklorofilid menjadi klorofilid a pada tumbuhan angiospermae mutlak membutuhkan cahaya. Selanjutnya klorofil jenis yang lain disintesis dari klorofil a (Pandey dan Sinha, 1979)

Kandungan klorofil pada daun akan mempengaruhi reaksi fotosintesis. Kadar klorofil yang sedikit tentu tidak akan menjadikan reaksi fotosintesis maksimal. Ketika reaksi fotosintesis tidak maksimal, senyawa karbohidrat

yang dihasilkan juga tidak bisa maksimal. Pada tumbuhan karbohidrat terdapat sebagai selulosa, yaitu senyawa yang membentuk dinding sel tumbuhan. Serat kapas dapat dikatakan seluruhnya terdiri atas selulosa Riyono (2017).

Klorofil a berperan sentral untuk menyerap dan menyalurkan energi cahaya ke pusat reaksi untuk mengeksitasi elektron. Klorofil b merupakan bentuk khusus dari klorofil a. Pembentukan klorofil b membutuhkan O_2 dan $NADPH_2$ dengan bantuan enzim *chlorophyll a oxygenase* (CAO). Pigmen klorofil menyusun sekitar 4% bobot kering kloroplas dan klorofil b berjumlah 1/3 dari klorofil a. Klorofil b berfungsi sebagai pigmen antena. Cahaya ditangkap oleh klorofil b yang bergabung dalam kompleks pemanen cahaya (LHC) kemudian ditransfer ke klorofil a dan pigmen antena lain yang berdekatan dengan pusat reaksi (Salisbury dan Ross, 1995)

Dua jenis klorofil yang terdapat sebagai butir-butir hijau dalam kloroplas masing-masing berwarna hijau tua untuk klorofil a dengan rumus kimia $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ dan berwarna hijau muda untuk klorofil b dengan rumus molekul $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ (Dwidjoseputro, 1981). Molekul klorofil terdiri dari dua bagian yaitu kepala porfirin dan rantai hidrokarbon yang panjang, atau ekor fitol. Porfirin adalah tetrapirrol siklik, yang terdiri dari empat nitrogen yang mengikat cincin pirol yang dihubungkan dengan empat rantai metana disebut porfin (Roziaty, 2009). Perbedaan antara struktur kedua klorofil dapat dilihat pada klorofil b yang mempunyai gugus aldehyd sebagai pengganti gugus methyl pada klorofil a yang terikat pada cincin II (Roziaty, 2009).

G. Stomata

Stomata berasal dari bahasa Yunani yaitu stoma yang berarti lubang atau porus, jadi stomata adalah lubang-lubang kecil berbentuk lonjong yang dikelilingi oleh dua sel epidermis khusus yang disebut sel penutup

(Kartosapoetra, 1991). Stomata merupakan modifikasi dari sel epidermis daun berupa sepasang sel penjaga yang bisa menimbulkan celah sehingga uap air dan gas dapat dipertukarkan antara bagian dalam dari stomata dengan lingkungan (Oktarin dkk., 2017).

Stoma (jamak: stomata) adalah lubang atau celah yang terdapat pada epidermis organ tumbuhan yang berwarna hijau yang dibatasi oleh sel khusus yang disebut sel penutup. Sel penutup dikelilingi oleh sel-sel yang bentuknya sama atau berbeda dengan sel-sel epidermis lainnya dan disebut sel tetangga. Sel tetangga berperan dalam perubahan osmotik yang menyebabkan gerakan sel penutup yang mengatur lebar celah (Papuangan dkk., 2014).

Stomata menyediakan jalur langsung antara daun dengan atmosfer yang memfasilitasi pertukaran gas (CO_2 dan O_2) serta H_2O . Kerapatan stomata dipengaruhi oleh tekanan air pada daun dan dipengaruhi oleh intensitas cahaya. Tekanan air mempengaruhi ukuran epidermis dan intensitas cahaya mempengaruhi kepadatan stomata dan indeks stomata (Royer, 2014).

Stomata pada tumbuhan berperan penting dalam pengaturan pertukaran gas antara daun dan atmosfer. Pembukaan stomata memungkinkan masuknya CO_2 untuk fotosintesis dan transpirasi untuk meningkatkan serapan hara di akar. Stomata akan terbuka sebagai respon terhadap beberapa rangsangan lingkungan seperti cahaya biru, cahaya merah, CO_2 rendah dan toksin jamur fusicoccin (FC) (Ridwan dkk., 2022).

Jumlah stomata bervariasi diantara jenis-jenis tumbuhan. Keadaan lingkungan juga memengaruhi kerapatan stomata. Daun yang tumbuh pada lingkungan kering dan di bawah cahaya dengan intensitas tinggi cenderung mempunyai stomata banyak dan kecil dibandingkan dengan yang hidup pada lingkungan basah dan terlindung. Daun dengan sistem pertulangan menjalar stomata menyebar tidak teratur sedangkan pada daun dengan sistem pertulangan sejajar seperti pada *Gramineae*, stomata tersusun dalam

barisan yang sejajar. Stomata biasanya ditemukan pada bagian tumbuhan yang berhubungan dengan udara terutama di daun. Stomata tidak ditemukan di akar dan seluruh permukaan beberapa tumbuhan parasit yang tanpa klorofil. Stomata dapat juga ditemukan pada daun mahkota, tangkai sari, daun buah dan biji tetapi biasanya stomata tersebut tidak berfungsi (Mustika dkk., 2017).

H. Karbohidrat

Karbohidrat merupakan senyawa karbon, hydrogen dan oksigen yang terdapat dalam alam. Karbohidrat mempunyai rumus empiris CH_2O . Karbohidrat sebenarnya adalah polisakarida aldehyd dan keton atau turunan mereka. Nama lain karbohidrat adalah sakarida (berasal dari bahasa latin *saccharum* yang artinya adalah gula). Nama karbohidrat berasal dari kenyataan bahwa kebanyakan senyawa dari golongan ini mempunyai rumus empiris yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut adalah karbon “hidrat” dan memiliki nisbah 1:2:1 untuk C, H dan O. Perbandingan jumlah atom H dan O adalah 2:1 seperti pada molekul air (Fitri dkk., 2020).

Karbohidrat merupakan sumber energi utama bagi tubuh manusia, yang menyediakan 4 kalori energi pangan per gram. Karbohidrat juga mempunyai peranan penting dalam menentukan karakteristik bahan makanan, misalnya rasa, warna, tekstur, dan lain-lain. Sedangkan dalam tubuh, karohidrat berguna untuk mencegah tumbuhnya ketosis, pemecahan tubuh protein yang berlebihan, kehilangan mineral, dan berguna untuk membantu metabolisme lemak dan protein (Fitri dkk., 2020). Kebanyakan karbohidrat yang dikonsumsi adalah tepung atau amilum atau pati yang ada dalam gandum, jagung, beras, kentang, dan padi-padian lainnya. Karbohidrat juga menjadi komponen struktur penting pada makhluk hidup dalam bentuk serat (fiber), seperti seluloosa, pectin, serta lignin (Endahwati, 2016).

Klasifikasi karbohidrat terdiri dari monosakarida, disakarida dan polisakarida (Fessenden, 1982). Monosakarida adalah karbohidrat yang

sederhana, dalam arti molekulnya hanya terdiri atas beberapa atom karbon saja dan tidak dapat diuraikan dengan cara hidrolisis dalam kondisi lunak menjadi karbohidrat lain. Monosakarida tidak berwarna, bentuk kristalnya larut dalam air tetapi tidak larut dalam pelarut nonpolar. Monosakarida digolongkan menurut jumlah karbon yang ada dan gugus fungsi karbonilnya yaitu aldehid (aldosa) dan keton (ketosa). Glukosa, galaktosa, dan deoksiribosa semuanya adalah aldosa. Monosakarida seperti fruktosa adalah ketosa (Fitri dkk., 2020)

Sumber utama karbohidrat di dalam makanan berasal dari tumbuh-tumbuhan dan hanya sedikit saja yang termasuk bahan makanan hewani. Di dalam tumbuhan karbohidrat mempunyai dua fungsi utama yakni sebagai simpanan energi dan sebagai penguat struktur tumbuhan tersebut. Sumber karbohidrat pada tumbuhan ini dapat mencapai 90% (Sediaoetama, 2014). Karbohidrat terbentuk dalam tumbuh-tumbuhan sebagai hasil reaksi dari karbondioksida (CO_2) dengan air (H_2O) dengan bantuan sinar matahari melalui proses fotosintesis dalam tanaman yang berklorofil (bagian daun). Karbohidrat yang dihasilkan adalah karbohidrat sederhana glukosa. Foto (sinar) dan tesis (pembentukan). Energi yang terbentuk melalui proses fotosintesis tersebut disimpan dalam berbagai organ tanaman diantaranya dalam daun, batang, akar, biji dan buah-buahan tanaman. Selanjutnya organ-organ tersebut dimanfaatkan oleh manusia sebagai bahan makanan. Energi akan dilepaskan melalui proses oksidasi makanan di dalam tubuh (Kartasapoetra, 2012).

I. Gula Reduksi

Gula pereduksi merupakan golongan gula karbohidrat yang dapat mereduksi senyawa – senyawa penerima elektron, contohnya adalah glukosa dan fruktosa. Gula reduksi adalah gula yang mempunyai kemampuan untuk mereduksi. Gula reduksi adalah gula yang memiliki gugus aldehid (aldosa) atau keton (ketosa) bebas. Aldosa mudah teroksidasi menjadi asam aldolat, sedangkan ketosa hanya dapat bereaksi dalam suasana basa. Secara

umum, reaksi tersebut digunakan dalam penentuan gula secara kuantitatif. Penggunaan larutan Fehling merupakan metode pertama dalam penentuan gula secara kuantitatif. Larutan fehling merupakan larutan alkalin yang mengandung tembaga (II) yang mengoksidasi aldosa menjadi aldonat dan dalam prosesnya akan tereduksi menjadi tembaga (I), yaitu Cu_2O yang berwarna merah bata dan mengendap. Maltosa dan laktosa adalah contoh gula reduksi. Sifat gula pereduksi ini disebabkan adanya gugus aldehida dan gugus keton yang bebas, sehingga dapat mereduksi ion-ion logam (Rohman, 2013).

Gugus aldehida pada aldoheksosa mudah teroksidasi menjadi asam karboksilat dalam pH netral oleh zat pengoksidasi atau enzim. Dalam zat pengoksidasi kuat, gugus aldehida dan gugus alkohol primer akan teroksidasi membentuk asam dikarboksilat atau asam ardat. Gugus aldehida atau gugus keton monosakarida dapat direduksi secara kimia menjadi gula alkohol, misalnya D-sorbito yang berasal dari D-glukosa. Jenis gula yang termasuk gula reduksi adalah glukosa, manosa, laktosa, maltosa, fruktosa, galaktosa. Sedangkan gula nonreduksi adalah gula yang gugus karbonilnya berikatan dengan senyawa monosakarida lain seperti sukrosa (Wulandari, 2017).

Glukosa biasanya digunakan sebagai bahan tambahan yang bermanfaat sebagai pemanis. Selain itu, glukosa juga dapat bereaksi dengan panas yang menyebabkan reaksi pencoklatan non enzimatik (*browning reaction*) seperti reaksi Maillard dan karamelisasi. Reaksi Maillard merupakan reaksi yang terjadi antara karbohidrat yang mengandung gula reduksi dengan gugus amina primer yang akan menghasilkan warna coklat atau melanoidin. Hal ini dapat dilihat dari roti, biasanya adonan roti yang dipanggang akan berubah menjadi coklat gelap yang dikarenakan peranan dari gula reduksi yaitu glukosa yang berperan dalam reaksi Maillard dan karamelisasi (Ridhani dkk., 2021).

Metode Nelson Somogyi digunakan untuk mengukur kadar gula reduksi dengan menggunakan pereaksi tembaga-arsenol-molibdat. Reagen nelson somogyi berfungsi sebagai oksidator antara kuprooksida yang bereaksi dengan gula reduksi membentuk endapan merah bata. Dalam hal ini, pereaksi Somogyi merupakan pereaksi tembaga alkali yang mengandung Na_2PO_4 anhidrat dengan garam K-Na-tartrat (garam Rochelle), sedangkan pereaksi Nelson mengandung amonium molibdat H_2SO_4 , $\text{NaHAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Dengan membandingkannya terhadap larutan standar, konsentrasi gula dalam sampel dapat ditentukan. Reaksi warna yang membentuk dapat menentukan konsentrasi gula dalam sampel dengan mengukur absorbansinya. Metode Nelson-Somogyi merupakan salah satu metode kimiawi yang dapat digunakan untuk analisa karbohidrat adalah metode oksidasi dengan kupri. Metode ini didasarkan pada peristiwa tereduksinya kupri oksida menjadi kupro oksida karena adanya kandungan senyawa gula reduksi pada bahan. Reagen yang digunakan biasanya merupakan campuran kupri sulfat, Na-karbonat, natrium sulfat dan K-Na-tartrat (reagen Nelson Somogy) (Rohman, 2013).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2022 sampai Desember 2022 di Desa Srimenganten, Kecamatan Pulau Panggung, Kabupaten Tanggamus dan 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 paranet, tajar bambu, sekop kecil, botol semprot, aluminium foil, pinset, *scalpel*, *erlenmeyer* berukuran 50 ml, corong, micropipet, kertas label, mikroskop, spektrofotometri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan analitik, gelas ukur, batang pengaduk, *polybag*, *waterbath* dan kamera.

2. Bahan-bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah tanaman vanili yang berumur 4 bulan, alkohol 96%, akuades, *Polyethylene Glycol* (PEG) 6000, pupuk organik, tisu, kertas filter, tanah, sukrosa, H₂SO₄, fenol, glukosa, regensia nelson a, regensia nelson b dan regensia arsenomolybdat.

C. Rancangan Percobaan

Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap dengan lima konsentrasi yaitu konsentrasi PEG 6000 yang terdiri atas empat taraf perlakuan yaitu 0% (A1), 10% (A2), 20% (A3), 30% (A4) dan 40% (A5). Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak lima kali yang

terdiri atas satu bibit vanili. Parameter yang diujikan adalah persentase jumlah tanaman yang hidup, visualisasi planlet, analisis kandungan klorofil, analisis kandungan karbohidrat terlarut total, indeks stomata, analisis kandungan gula reduksi dan indeks toleransi cekaman. Tata letak percobaan disajikan pada Tabel 1. di bawah ini.

Tabel 1. Tata Letak Satuan Percobaan

Jenis Sampel				
A5U4	A5U5	A3U2	A2U2	A3U4
A1U1	A1U3	A4U5	A4U1	A2U1
A5U1	A4U2	A5U2	A2U5	A3U3
A2U3	A1U2	A5U3	A4U4	A4U3
A2U4	A1U5	A1U4	A3U5	A3U1

Keterangan:

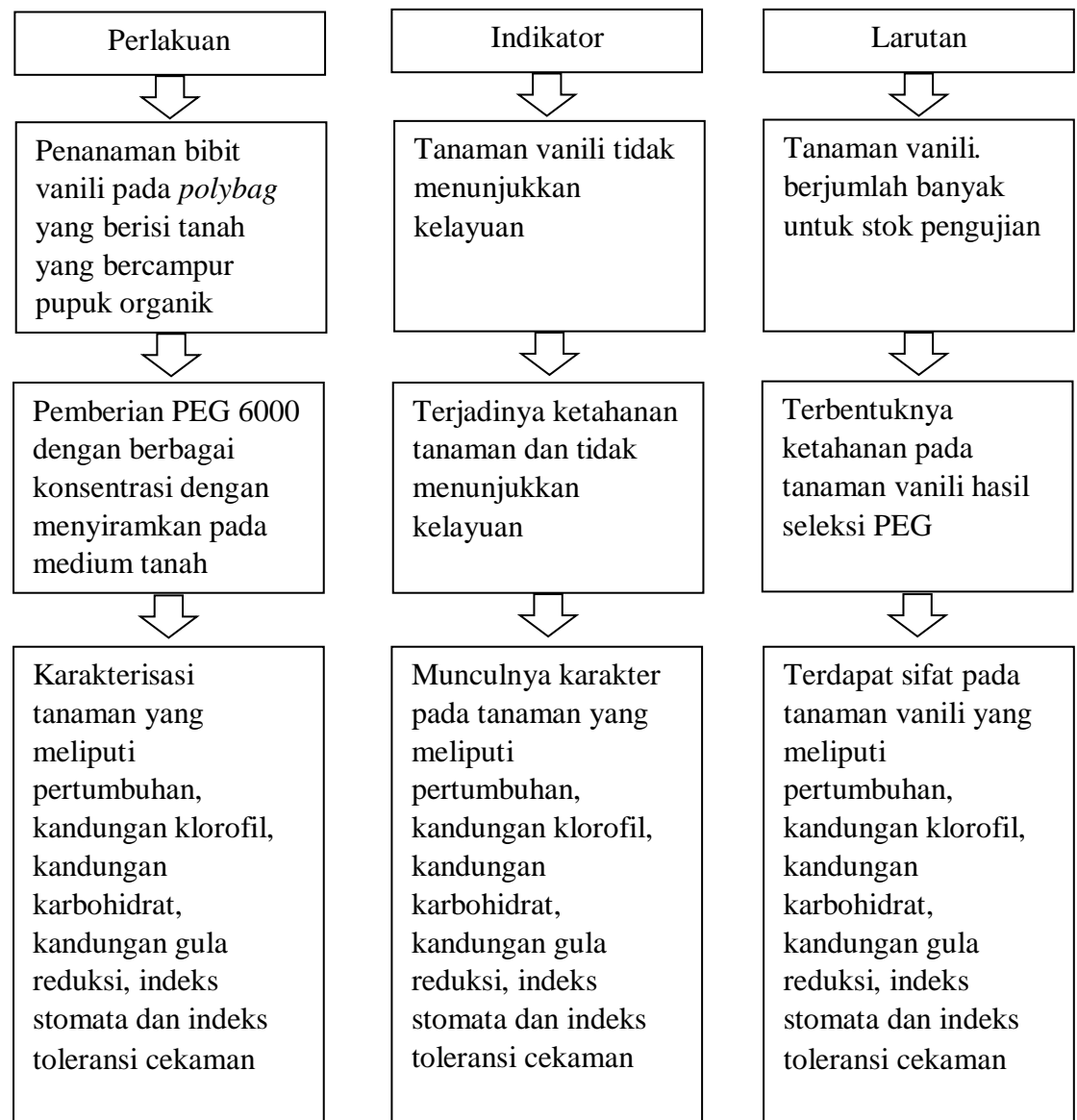
A1-A5 : Konsentrasi PEG 6000

U1-U5 : Ulangan 1-5

D. Bagan Alir Penelitian

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan yaitu: 1) Persiapan lahan dan rumah kaca yang berukuran 3m x 3; 2) Penanaman bibit vanili yang berumur 4 bulan ke dalam *polybag* yang berisi tanah dan pupuk organik dengan perbandingan 1:1; 3) Penentuan kisaran konsentrasi PEG 6000 toleran untuk seleksi tanaman vanili; 4) Analisis karakter yang spesifik pada tanaman vanili resisten terhadap cekaman kekeringan meliputi analisis kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total, analisis kandungan karbohidrat total, analisis kandungan gula reduksi, indeks stomata, indeks toleransi cekaman kekeringan, persentase jumlah tanaman yang hidup dan visualisasi tanaman. Pengamatan dilakukan setiap 7 hari selama empat minggu.

Tahapan penelitian disajikan dalam bentuk diagram alir seperti tercantum pada Gambar 2.



Gambar 2. Bagan Alir Penelitian

E. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa langkah. Adapun langkah-langkah dalam penelitian ini sebagai berikut.

1. Persiapan Lahan dan Medium Tanam

Lahan dibersihkan dari berbagai macam rumput dan dibuat serata mungkin dengan ukuran 3m x 3m. Kemudian di atas lahan diberi

naungan dengan menggunakan paranet dengan rangka yang terbuat dari bambu. Kemudian persiapan wadah plastic *polybag* sebanyak 25 buah dan diisikan tanah dan pupuk organik dengan perbandingan 1: 1. Setelah terisi tanah, *polybag* diletakkan di masing-masing petakan.

2. Pembuatan PEG

Pemberian larutan PEG sesuai dengan konsentrasi yaitu 0%, 10%, 20%, 30% dan 40%. PEG 6000 yang telah dilarutkan dengan akuades pada konsentrasi tertentu disaring terlebih dahulu menggunakan *syringe filter*. Selanjutnya pemberian PEG 6000 disiramkan ke dalam *polybag* setiap 7 hari sekali selama 4 minggu sebanyak 10 ml.

3. Penanaman Vanili

Tanaman vanili yang berumur 4 bulan ditanam pada masing-masing *polybag* yang berisi tanah dan pupuk Masing-masing perlakuan diulang sebanyak lima kali dan setiap ulangan terdiri dari 1 tanaman vanili dalam setiap *polybag*.

4. Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada akhir minggu ke-4 untuk mengetahui karakterisasi tanaman vanili meliputi parameter sebagai berikut:

a. Persentase Jumlah Tanaman yang Hidup

Perhitungan jumlah tanaman vanili hidup dengan menggunakan Rumus 1 menurut Nurcahyani dkk. (2014) adalah:

$$\text{Jumlah tanaman yang hidup} = \frac{\text{Jumlah tanaman yang hidup}}{\text{Jumlah seluruh tanaman}} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

b. Visualisasi Tanaman

Visualisasi tanaman meliputi warna daun tanaman setelah diberikan perlakuan PEG 6000 dengan klasifikasi sebagai berikut: hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna coklat, dan coklat (Nurcahyani dkk., 2012).

c. Indeks Stomata (IS)

Pembuatan preparat untuk pengamatan indeks stomata pada daun tanaman vanili menggunakan metode Haryanti (2010) yaitu permukaan bawah daun diolesi cat kuku transparan lalu dibiarkan mengering. Kemudian cat kuku dikelupas menggunakan selotip sehingga daun tampak transparan dan diletakkan di atas obyek glass. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Indeks stomata dapat dihitung menggunakan Rumus 2 (Willmer,1983).

$$IS (\%) = \frac{\text{Jumlah Stomata}}{\text{Sel Epidermis} + \text{Jumlah stomata}} \times 100 \dots \dots \dots (2)$$

d. Indeks Toleransi Cekaman (ITC)

Nilai dari indeks toleransi cekaman dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut (Fernandez, 1992).

$$ITC = \frac{Y_{pi} \times Y_{si}}{Y_p} \times 100\% \dots \dots \dots (3)$$

Keterangan:

- ITC : Indeks toleransi cekaman
- Y_{pi} : Berat basah tanaman pada kondisi normal
- Y_{si} : Berat basah tanaman pada kondisi tercekam
- Y_p : Rata-rata berat basah dari seluruh tanaman pada kondisi optimum

Kriteria untuk menentukan tingkat toleransi tanaman terhadap cekaman kekeringan sebagai berikut.

- Jika nilai ITC <0,5 maka tanaman sangat peka cekaman kekeringan.
- Jika $0,75 < ITC > 0,5$ maka tanaman peka cekaman kekeringan.
- Jika $1,0 \leq ITC > 0,75$ maka tanaman medium toleran cekaman kekeringan.
- Jika ITC >1,0 maka tanaman toleran cekaman kekeringan

e. Analisis Kandungan Klorofil

Bahan yang digunakan untuk analisis klorofil yaitu daun tanaman vanili yang telah diseleksi dengan PEG 6000 menggunakan metode Miazek (2013) dengan spektrofotometer. Daun tanaman vanili yang seragam sebanyak 0,1 gram, kemudian digerus dengan mortar dan

ditambahkan 10 ml ethanol 96%. Larutan disaring dengan kertas *Whatman* No. 1 dan dimasukkan ke dalam flakon lalu ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar (etanol 96%) diambil sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam kuvet. Setelah itu, dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang sebesar 664 nm dan 648 nm dengan tiga kali ulangan setiap sampel. Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan Rumus *Wintersmans* dan *De Mots*:

$$\text{Klorofil a} = 13,36 \times A_{664} - 5,19 \times A_{648} \quad (4)$$

$$\text{Klorofil b} = 27,43 \times A_{648} - 8,12 \times A_{664} \quad (5)$$

$$\text{Klorofil total} = 5,24 \times A_{664} + 22,24 \times A_{648} \quad (6)$$

Keterangan:

A665 = Absorbansi pada panjang gelombang 665 nm

A649 = Absorbansi pada panjang gelombang 649 nm

f. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total

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

Kandungan karbohidrat terlarut total dihitung dengan cara membuat larutan standar glukosa yang terdiri dari beberapa konsentrasi kemudian diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm. Hasil absorbansi larutan standar dibuat persamaan regresi linier sehingga diperoleh persamaan: $Y = ax + b$.

g. Analisis Kandungan Gula Reduksi

Bahan untuk analisis kandungan gula reduksi menggunakan tanaman vanili yang telah diberikan PEG 6000 dan tanpa perlakuan (kontrol). Analisis kandungan gula reduksi menggunakan metode Somogyi-Nelson (Al kayyis dan Susanti, 2016) dengan langkah-langkah sebagai berikut.

1. Pembuatan Kurva Kalibrasi Gula Reduksi

Pembuatan larutan glukosa standar (12 mg glukosa/100 mL), dilakukan pengenceran larutan glukosa dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 mg/100 mL yang masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi dan 1 tabung berisi akuades sebagai blanko. Lalu ditambahkan 1 mL Regensia Nelson (Nelson a 25 bagian dan Nelson b 1 bagian) ke dalam masing-masing tabung. Larutan yang telah ditambahkan Nelson kemudian dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit. Larutan tersebut kemudian didinginkan di dalam gelas piala yang berisi air dingin sampai suhu tabung 25° C, lalu ditambahkan 1 mL Regensia Arsenomolybdat, kocok hingga homogen. Larutan diukur dengan spektrofotometer Vis pada panjang gelombang 695 nm, kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi glukosa dengan absorbansi.

2. Penentuan Kandungan Gula Reduksi

Ekstrak daun vanili segar (larutan ekstrak harus jernih) masing-masing dengan konsentrasi diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml Regensia Nelson ke dalam masing-masing tabung. Larutan yang telah ditambahkan Regensia Nelson kemudian dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit. Larutan kemudian didinginkan di dalam gelas piala yang berisi air dingin hingga suhu tabung 25°C. Setelah itu, larutan ditambahkan 1 mL Regensia Arsenomolybdat kemudian kocok hingga semua

sendapan larut kembali. Setelah larutan tercampur secara homogen, larutan ditambahkan 7 mL akuades lalu dikocok kembali hingga homogen. Larutan diukur dengan spektrofotometer Vis pada Panjang gelombang 695 nm. Selanjutnya yaitu membuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi glukosa dengan absorbansi.

Menurut Pujiati dan Novi (2016), kandungan gula reduksi dihitung menggunakan rumus 7 berikut:

$$\text{Kandungan gula reduksi (\%)} = \frac{X \times Fp}{BS} \times 100\% \dots\dots\dots(7)$$

Keterangan:

X : Nilai x sampel
Fp : Faktor pengenceran

5. Analisis Data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan tanaman vanili selama seleksi dengan PEG 6000 berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dengan foto. Data kuantitatif dari setiap parameter dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA), kemudian dilanjutkan dengan uji BNT pada taraf nyata 5%.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk seleksi tanaman vanili secara *in vivo* adalah 40%.
2. Karakter ekspresi pada tanaman vanili yang mengalami cekaman kekeringan dengan PEG 6000 secara *in vivo* meliputi:
 - a. Indeks stomata tanaman vanili dengan penambahan PEG 6000 pada konsentrasi 40% toleran terhadap cekaman kekeringan.
 - b. Indeks toleransi cekaman tanaman vanili dengan penambahan PEG 6000 dikelompokkan menjadi toleran, medium toleran dan peka terhadap cekaman kekeringan.
 - c. Semakin tinggi konsentrasi PEG 6000 maka kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total tanaman vanili semakin menurun.
 - d. Semakin tinggi konsentrasu PEG 6000 maka kandungan karbohidrat terlarut total dan kandungan gula reduksi pada tanaman vanili mengalami peningkatan.

B. SARAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap tanaman vanili yang mampu bertahan dalam konsentrasi PEG yang tinggi dan respon tanaman yang mampu bertahan dalam konsentrasi PEG dengan konsentrasi yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 2019. *Dasar Pengetahuan Ilmu Tanaman*. Penerbit Angkasa. Bandung. 177 hal.
- Afa, L. B.S., Purwoko, A., Junaedi, O., Haridjaja, I.S. dan Dewi. 2013. Deteksi Dini Toleransi Padi Hibrida Terhadap Kekeringan Menggunakan PEG 6000. *J. Agron Indonesia*. 41(1): 9-15.
- Ai, N. S. dan Banyo, Y. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*. 11(2): 166-171.
- Al Kayyis, H. K. dan Susanti, H. 2016. Perbandingan Metode Somogyi-Nelson dan Anthrone-Sulfat pada Penetapan Kadar Gula Pereduksi dalam Umbi Cilembu (*Ipomea batatas* L.). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. 13(2): 81-89.
- Alonso, R., Elvira S, Castillo F.J. and Gimeno BS. 2001. Interactive Effects of Ozone and Drought Stress on Pigments and Activities of Antioxidative Enzymes In Pinus Halepensis. *Plant Cell Environ*. 24(1): 905-916.
- Ariyanto, D., 2018. Stomata Dynamic on All Types of Mangrove in Rembang Distric, Central Java, Indonesia. *Internasional Journal of Sciences: Basic and Applied Research*. 38(1): 64-69.
- Ashari, A., Nurcahyani, E., Qudus, H. I. dan Zulkifli. 2018. Analisis Kandungan Prolin Planlet Jeruk Keprok Batu 55 (*Citrus reticulata* Blanco var. *crenatifolia*) Setelah Diinduksi Larutan Atonik dalam Kondisi Cekaman Kekeringan Secara *In Vitro*. *Analit: Analytical and Environmental*. 3(1): 69-79.
- Ayaz, F.A., Colak, N., Topuz, M., Tarkowski, P., Jaworek, P., Seiler, G. and Inceer, H. 2015. Comparison of Nutrient Content in Fruit of Commercial Cultivars of Eggplant (*Solanum melongena* L.). *Pol. J. Food Nutr*. 65(4): 251-259.
- Badami, K. dan Amzeri, A. 2010. Seleksi *In Vitro* untuk Toleransi Terhadap Cekaman Kekeringan pada Jagung (*Zea mays*) dengan *Polyethylene Glycol* (PEG). *Agrovigor*. 3(1): 77-86.

- Badan Pusat Statistik (BPS). 2020. Produksi Tanaman Vanili Perkebunan Rakyat Menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Lampung. Jakarta.
<https://lampung.bps.go.id/indicator/54/258/2/produksi-tanaman.html>.
Diakses Pada 05 Juli 2022.
- Baharuddin, Muin, M. dan Bandaso, H. 2007. Pemanfaatan Nira Aren (*Arenga pinnata* Merr.) sebagai Bahan Pembuatan Gula Putih Kistal. *J. Perennial*. 3(2): 40-43.
- Banyo, Y. E., Ai, N. S., Siahaan, N. S. dan Tangapo, A. M. 2013. Konsentrasi Klorofil Daun pada Padi saat Kekurangan Air yang Diinduksikan dengan Polietilen Glikol. *J. Ilmiah Sains*. 13(1): 1-8.
- Bray, E. A. 2017. Plant Responses to Water Deficit. *Trend Plant Sci*. 2(21): 48-54.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Clasification of Flowering Plants*. Colombia University Press. New York.
- Darmawan, J. dan Baharsjah J.S., 2015. *Dasar-dasar Fisiologi Tanaman*. SITC. Jakarta. 85 hlm.
- Daryanti dan Haryuni. 2017. Pengaruh Inokulasi *Rhizoctonia Binukleat* (Bnr) dan Variasi Penyiraman Terhadap Kadar Nitrogen, Posfor Tanah dan Pertumbuhan Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews). *Agrineca*. 17(1): 38-46.
- Djazuli, M. 2010. Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Pertumbuhan dan Beberapa Karakter Morfo-Fisiologis Tanaman Nilam. *Bul Littro*. 21(1): 8-17.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers. P.A. and Amith, F. 1956. Calorimetric Method for Determination Sugar of Sugars and Releated Substance. *Anal Chem*. 28(3): 350-356.
- Du. Y., Zhao, Q., Chen, L., Yao, X., Zhang. H., Wu. J., and Xie, F. 2020. Effect of Drought Stress during Soybean R2–R6 Growth Stages on Sucrose Metabolism in Leaf and Seed. *International Journal of Moleculer Science*. 21(168): 1-19.
- Endahwati, L. 2016. Perpisahan Massa Karbohidrat menjadi Glukosa dari Buah Kersen dengan Proses Hidrolisis. *Jurnal Peneliti Ilmu Teknik*. 10(1): 1–5.
- Erni, R. H., Siregar, L. A. M., dan Bayu, E. S. 2013. Pertumbuhan Akar Pada Perkecambahan Beberapa Varietas Tomat dengan Pemberian *Polyethylene Glikol* (PEG) Secara *In Vitro*. *Jurnal Online Agroekoteknologi*. 1(3): 418-428.

- Erona, M. 2016. Pertumbuhan Bibit Vanili (*Vanilla planifolia*, A) Terinokulasi Fungi Mikoriza Arbuskula dan *Trichoderma harzianum* Pada Tanah Ultisol. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Faisal, M. dan Anis, M. 2006. Thidiazuron Induced High Frequency Axillary Shoot Multiplication in *Psoralea corylifolia*. *Biologia Plantarum*. 50(3): 437- 440.
- Fessenden, R. J. 1990. *Kima Organik Jilid 1 Edisi 3, Alih Bahasa., Pudjaatmaka*. Erlangga. Jakarta. 707 hlm.
- Fernandez, G. C. J. 1992. Effective Selection Criteria for Assessing Stress Tolerance. *Proceeding of International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops in Temperature and Water Stress*. 256-270.
- Fitri, S. A., Arinda, Y. dan Fitriana, N. 2020. Analisis Senyawa Kimia pada Karbohidrat. *Sainteks*. 17(1): 45-52.
- Graham, H. N. 1992. Green Tea Composition, Consumption and Polyphenol Chemistry. *Preventive Medicine*. 21(3): 334-350.
- Grudzinska, M., Mankowswaka, B. D., and Zarznyska, K. 2021. Drought Stress During the Growing Season: Changes in Reducing Sugars, Starch Content and Respiration Rate During Storage of Two Potato Cultivars Differing in Drought Sensitivity. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 1(1): 1-6.
- Hadisutrisno, B. 2012. Taktik dan Strategi Perlindungan Tanaman Menghadapi Gangguan Penyakit Layu Fusarium. *Simposium Nasional I*. Purwokerto 2-3 Maret 2004.
- Hendriyani, I. S. dan Setiari, N. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. *J. Sains & Mat*. 17(3): 145-150.
- Hidayat, A. Y. dan Hariyadi. 2015. Respon Pertumbuhan Bibit Panili (*Vanilla planifolia* Andrews) terhadap Aplikasi Zat Pengatur Tumbuh dan Pupuk Cair NPK. *Bul. Agrohorti*. 3(1): 39-46.
- Jamaludin dan Ranchiano, G. M. 2021. Pertumbuhan Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia*) dalam Polybag pada Beberapa Kombinasi Media Tanam dan Frekuensi Penyiraman Menggunakan Teknologi Irigasi Tetes. *Jurnal Agro Industri Perkebunan*. 9(2): 65-72.
- Jumin, H. B. 2016. *Ekologi Tanaman Suatu Pendekatan Fisiologis*. Rajawali Press. Jakarta. 162 hlm.

- Kartasapoetra, A.G. 1991. Teknologi Pengairan Pertanian Irigasi. Badan Penerbit Bumi Aksara. 188 hlm.
- Kartasapoetra, G. dan Marsetyo, H. 2012. *Ilmu Gizi: Korelasi Gizi, Kesehatan dan Produktivitas Kerja*. Rineka Cipta. Jakarta. 123 hlm.
- Kaufman, M. R. and Eckard, A.N. 1971. Evaluation of Water Stress Control with Polyethylene Glycol. *Science*. 47(4): 1486-1487.
- Kerepesi, I. and Galiba, G. 2000. Osmotic and Salt-Stress Induced Alteration In Soluble Carbohydrate Content In Wheat Seedlings. *Crop Sci*. 40(1): 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.
- Khan, A.H., *et al.* (2012), Impact of Job Satisfaction on Employee Performance: An Empirical Study of Autonomous Medical Institutions of Pakistan. *African Journal of Business Management*. 6(7): 2697-2705.
- Kurniawan, A. B dan Arifin, F. S. 2014. Pengaruh Jumlah Pemberian Air Terhadap Respon Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabaccum L.*). *Jurnal Produksi Tanaman*. 2(1): 59-64.
- Laisina, Purwito, J. K. J., Maharijaya, A. S. dan Awang. 2021. Evaluasi Toleransi Kekeringan Kentang (*Solanum tuberosum L.*) pada Kondisi *In Vitro* dan *In Vivo*. *Tesis*. IPB. Bogor.
- Lawani. 2013. Panili Budidaya dan Penanganan Pasca Panen. Kanisius. Yogyakarta. 112 hlm.
- Lestari, E.G. 2006. Hubungan antara Kerapatan Stomata dengan Ketahanan Kekeringan pada Somaklon Padi Gajah Mungkur, Towuti dan IR 64. *Jurnal Biodiversitas*. 7(1): 44-48.
- Lestari, S. dan Wijayani, A. 2022. Mikrostek Vanili (*Vanilla planifolia Andrews*) pada Berbagai Macam Media dan ZPT Secara *In Vitro*. *Agrivet*. 8(1): 1-8.
- Levit, J. 2014. *Responses Of Plants to Environmental Stresses: Water, Radiation, Salt and Other Stresses*. Academic Press. New York. pp 365.
- Li, R., Guo, P., Baum, M., Grando, S. dan Ceccarelli, S. 2006. Evaluation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerant in Barley. *Agric Sci*. 5(10): 751-757.

- Lilis, N.P., Enny, A., Sukka, S. 2016. Penentuan Keragaman Karakter Tanaman Manggis Melalui Identifikasi Morfologis dan Anatomi Daun Tanaman Manggis (*Gracinia mangostana* L.) di Kabupaten Morowali Utara. *Jurnal Agrotekbis*. 4(3): 274-279.
- Lubis, R. E. dan Widanarko, A. 2017. *Buku Pintar Kelapa Sawit*. Agro Media Pustaka. Jakarta. 296 hlm.
- Manik, T. K., Rosadi B. dan Nurhayati, E. 2014. Mengkaji Dampak Perubahan Iklim Terhadap Distribusi Curah Hujan Lokal di Propinsi Lampung. *Forum Geografi*. 28(1): 71-76.
- 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. *Analytical Biochemistry*. 339(1): 69-72.
- Mathius, N.T., Wijana, G., Guharja, E., Aswidinnoor, H., Yahya, S. dan Subronto 2011. Respon Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis*) terhadap Cekaman Kekeringan. *Jurnal Penelitian Bioteknologi Perkebunan*. 69(2): 29–45.
- Matondang, O. C. dan Nurhayati. 2022. Pengaruh Cekaman Air Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Kopi. *Biology Education Science and Technology*. 5(1): 249-254.
- Meriko, L., dan Abizar, 2017. Struktur Stomata Daun Beberapa Tumbuhan Kantong Semar (*Nepenthes* sp.). *Berita Biologi*. 16(3): 325-330.
- Miazek, K. 2013. Chlorophyll Extraction From Leaves, Needles and Microalgae: A Kinetic Approach. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*. 6(2): 107-115.
- Michel B. E. and Kaufman, M. R. 2013. The Osmotic Potential of Polyethylene Glycol 6000. *Plant Physiol*. 5(1): 914-916.
- Mirantika, M., Hiariej, A., dan Sahertian D. E. 2021. Kerapatan dan Distribusi Stomata Daun Spesies Mangrove di Desa Negeri Lama Kota Ambon. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. 12(1): 1-6.
- Mochtar, M. 2012. Prospek Pemberian Alkohol Alifatis untuk Peningkatan Produksi Vanilli (Tinjauan Secara Fisiologis Tanaman). *Primordia*. 8(2): 56-62.
- Mustika; T., Mawardi, Ekariana S. P. dan Wulandari, D. 2017. Identifikasi Morfologi dan Anatomi Tipe Stomata Famili Piperaceae di Kota Langsa. *Jurnal IPA dan Pembelajaran*. 1(2): 181-191.

- Mohammadkhani, N. and R. Heidari. 2008. Drought-induced Accumulation of Soluble Sugars and Proline in Two Maize Varieties. *World Applied Sciences Journal*. 3(3): 448-453.
- Nurcahyani, E., Sumardi, I., Hadisutrisno, B. and Suharyanto, E. 2012. 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: Pengendalian Penyakit pada Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan*: 272–279.
- Nurcahyani, E., Mutmainah, A. N., Farisi. S. dan Agustrina, R. 2019. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Menggunakan Metode Fenol-Sulfur Secara *In Vitro*. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*. 4(1): 73-80.
- Nurcahyani, E., Qudus, H. I and Evlin, F. 2021. Analysis of the Reducing Sugar of Cassava (*Manihot Esculenta* Crantz.) Mutant Plantlets Resistant to Fusarium Wilt. *AIP Conference Proceedings*. 2331(050010): 1-4.
- Nurcahyani, E. 2022. *Varietas Unggul Vanili Tahan Busuk Batang; Berbasis Teknik Molekuler dan Induced Resistance*. Plantaxia. Yogyakarta. 68 hlm.
- Nurholis. 2017. Perbanyak Tanman Panili (*Vanilla planifolia* Andrews) Secara Stek dan Upaya untuk Mendukung Keberhasilan serta Pertumbuhannya. *Agrovigor*. 10(2): 149-156.
- Oktarin, A., Henny, L., Rampe, Johanis, J. dan Pelealu, J. 2017. Struktur Sel Epidermis dan Stomata Daun Beberapa Tumbuhan Suku Euphorbiaceae. *Jurnal MIPA Unsrat*. 6(1): 69-73.
- Pandey, S.N., Sinha, B.X. 1979. *Plant Physiology*. Vikas Publishing House FVT Ltd. NewDelh.
- Papuangan, N., Nurhasanah dan Djurumudi, M. 2014. Jumlah dan Distribusi Stomata pada Tanaman Penghijauan di Kota Ternate. *Jurnal Bioedukasi*. 3(1): 287-292.
- Piper, F.I., Fajardo, A., and Hoch G. 2017. Single-Provenance Mature Conifers Show Higher Non-Structural Carbohydrate Storage and Reduced Growth in a Drier Location. *Tree Physiol*, 37(8): 1001–1010.
- Pujiati, C. dan Novi, P. 2016. Analisis Kadar Gula Reduksi pada Fermentasi Kacang Gude (*Cajanus cajan*) oleh *Aspergillus niger*. *Proceeding Biology Education Conference*. 13(1): 832-835.

- Rahayu, S., Suyanto, Z. A. dan Anggia, E.N. 2004. Peningkatan kualitas anggrek *Dendrobium* hibrid dengan pemberian kolkhisin. *Agric. Ilmu Pertanian*. 11(1): 13–21.
- Rahayu E. S., Guhardja, E., Ilyas, S. dan Sudarsono. 2005. Polietilena Glikol (PEG) dalam Media *In Vitro* menyebabkan Kondisi Cekaman yang Menghambat Tunas Kacang Tanah (*Arachis hypogeal* L.). *Hayati* :11(1): (39- 48).
- Riduan, A., Aswidinnoor, H., Koswara, J., dan Sudarsono. 2015. Toleransi Sejumlah Kultivar Kacang Tanah terhadap Cekaman Kekeringan. *Hayati*. 12(1): 28-34.
- Ridwan, Hasiud, F. A. dan Rumakefing, H. 2022. Identifikasi Tipe Stomata Pada Beberapa Jenis Tumbuhan Dikotil dan Monokotil. *Jurnal Sains dan Pendidikan Biologi*. 1(1): 1-6.
- Ridhani, A. M., Vidyaningrum, P. I., Akmal, N. N., Fatihatunisa, R., Azzahro, S., dan Aini, N. 2021. Potensi Penambahan Berbagai Jenis Gula Terhadap Sifat Sensori dan Fisikokimia Roti Manis. *Pasundan Food Technology Journal (PFTJ)*. 8(3): 61-68.
- Riyono, H. S. 2017. Beberapa Sifat Umum dari Klorofil Fitoplankton. *Oseana*. 32(1): 23-31.
- Rohman, Abdul. 2013. *Analisis Komponen Makanan*. Graha Ilmu. Yogyakarta. 214 hlm.
- Rompas, Y., Rampe, H. Z. dan Rumondor, M. J. 2011. Struktur Sel Epidermis dan Stomata Daun Beberapa Tumbuhan Suku Orchidaceae. *J. Bioslogos*. 1(1): 13-19.
- Rosman, R. dan Rusli, S. 2014. Upaya Mendapatkan Mutu Panili. *Jurnal Litbang Pertanian*. 7(1): 1-4.
- Rowe, R. C., Sheeskey, P. J. and Owen, S. C. 2017. *Handbook of Pharmaceutical Exipient Sixth Edition*. American Pharamaeutical Association. London. Pp 917.
- Roziaty, E. 2009. *Kandungan Klorofil, Struktur Anatomi Daun Angsana (Pterocarpus indicus Willd.) dan Kualitas Udara Ambien di Sekitar Kawasan Industri Pupuk PT. Pusri di Palembang*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Salisbury, F.B. dan Ross, C.W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan. Jilid 3*. Penerbit ITB. Bandung. 343 hlm.

- Sediaotama, A. D. 2014. *Ilmu Gizi*. Dian Rakyat. Jakarta. 319 hlm.
- Setyaningsih, D., Rusli, S. M., dan Muliawati, N. 2017. Sifat Fisikokimia dan Aroma Ekstrak Vanili. *Jurnal Pertanian Indonesia*. 12(3): 173-181.
- Sinaga, R. 2007. Analisis Model Ketahanan Rumput Gajah dan Rumput Raja Akibat Cekaman Kekeringan Berdasarkan Respons Anatomi Akar dan Daun. *Jurnal Biologi Sumatera*. 2(1): 17-20.
- Sobran, M. J., Nurcahyani, E. dan Zulkifli. 2015. Kandungan Klorofil Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Hasil Seleksi Ketahanan terhadap Cekaman Kekeringan secara *In Vitro*. *Prosiding Seminar Nasional Swasembada Pangan*. 68-72.
- Song, A. I. 2010. Pengujian Kandungan Klorofil Total, Klorofil a dan b Sebagai Indikator Cekaman Kekeringan pada Padi (*Oryza sativa* L.). *Jurnal Ilmiah Sains*. 10(1): 86-90.
- Song, A. I. dan Banyo, Y. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*. 11(2): 166-173.
- Song, A. N. 2012. Evolusi Fotosintesis Pada Tumbuhan. *Jurnal Ilmiah Sains*. 12(1): 28-34.
- Song, A. N., Banyo, Y. E., Siahaan, P., Agustina, M. dan Tangapo, A. M. 2013. Konsentrasi Klorofil Daun Padi pada Saat Kekurangan Air yang Diinduksi dengan Polietilen Glikol. *Jurnal Ilmiah Sains*. 13(1): 1-8.
- Srikanth, D., V.H. Menezes., N. Saliyan., Rathnakar UP., Shiv Prakash G, S.D Aacharya., Ashok Shenoy K, Udupa A.L. 2013. Evaluation of Anti Inflammatory Property of Vanillin In Carrageenan Induced Paw Edema Model In Rats. *International Journal of Bioassays (IJB)*. 2(1): 269-271.
- Sujinah dan Jamil. 2016. Mekanisme Respon Tanaman Padi terhadap Cekaman Kekeringan dan Varietas Toleran. *IPTEK Tanaman Pangan*. 11(1): 1-8.
- Sumiati. 2001. Pengaruh Konsentrasi dan Waktu Pemberian Gibberellin (GA3) Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Selada. *Jurnal Hortikultura*. 3(4): 56-59.
- Tawfik, K.M. 2008. Effect water stress in addition to potassiomag application on Mugbean. *Aus. J. Basic & Applied Sciences*. 2(1): 42-52.
- Tombe M. 2010. Teknologi Ramah Lingkungan dalam Pengendalian Penyakit Busuk Batang Vanili. *Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian*. 3(2): 138-158.

- Turkan I, Bor M, Ozdemir F. and Koca H. 2005. Differential Responses of Lipid Peroxidation and Antioxidants In The Leaves of Drought Tolerant *P. Acutifolius* Gray and Drought Sensitive *P. Vulgaris* L. Subjected To PEG Mediated Water Stress. *Plant Science*. 168(1): 223-231.
- Widiyanti, P., Violitts, V., dan Chatri, M. 2017. Luas dan Indeks Stomata Daun Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Varietas Cisokan dan Batang Piaman Akibat Cekaman Kekeringan. *Bioscience*. 1(2): 77-86.
- Willmer, C.M. 1983. Stomata. Longman Group Limited. London.
- Wulandari, D. D. 2017. Analisa Kualitas Madu (Keasaman, Kadar Air dan Kadar Gula Pereduksi) Berdasarkan Perbedaan Suhu Penyimpanan. *Jurnal Kimia Riset*. 2(1): 16-21.
- Verslues, P.E., Agarwal, K.S., Agarwal, and Zhu, J. 2006. Methods and Concepts in Quantifying Resistance to Drought, Salt And Freezing, Abiotik Stress That Affect Plant Water Status. *Plant Journal*. 45(4): 523-539.
- Yudiwanti, Purnawati, H., Poerwanti, L. dan Manshuri, A. G. 2018. Akumulasi dan Distribusi Bahan Kering pada Beberapa Varietas Kacang Tanah. *J. Agron Indonesia*. 38(2): 100-106.
- Zulkarnain. 2019. *Dasar-dasar Hortikultura*. Bumi Aksara. Jakarta. 336 hlm.