

**PERAKITAN PLANLET KACANG ERCIS (*Pisum sativum* L.) HASIL
INDUKSI KALIUM DALAM CEKAMAN KEKERINGAN BERBASIS
BIOTEKNOLOGI SECARA *IN VITRO***

(SKRIPSI)

Oleh

Ma'ania Zalzabila

1917061005



**PROGRAM STUDI BIOLOGI TERAPAN
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG**

2023

ABSTRAK

PERAKITAN PLANLET KACANG ERCIS (*Pisum sativum* L.) HASIL INDUKSI KALIUM DALAM CEKAMAN KEKERINGAN BERBASIS BIOTEKNOLOGI SECARA *IN VITRO*

Oleh

Ma'ania Zalzabila

Kacang ercis atau kacang kapri (*Pisum sativum* L.) merupakan tanaman penghasil polong yang banyak diminati oleh masyarakat Indonesia dan biasa dikonsumsi sebagai sayur-sayuran. Seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk Indonesia maka peningkatan produksi dan kualitas tanaman kacang ercis perlu dilakukan untuk memenuhi permintaan pasar. Ketersediaan air dan kesuburan tanah menjadi faktor penting dalam keberhasilan produktivitas suatu tanaman. Salah satu upaya untuk menanggulangi permasalahan cekaman kekeringan adalah dengan pengelolaan unsur hara berupa kalium (K). Salah satu pupuk buatan yang sering digunakan adalah pupuk KCl. Penelitian ini menggunakan medium kultur *Murashige and Skoog* (MS) yang diberi 20% *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000 sebagai agen simulasi cekaman kekeringan secara *in vitro*. Tujuan penelitian ini adalah untuk (1) mengetahui konsentrasi KCl yang efektif untuk pertumbuhan planlet kacang ercis dalam cekaman kekeringan secara *in vitro*, (2) mengetahui karakter morfologis dan fisiologis yang terbentuk akibat efek pemberian konsentrasi KCl pada planlet kacang ercis dalam cekaman kekeringan secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan satu faktor, yaitu penambahan konsentrasi KCl pada 5 taraf yaitu; 0%, 0.25%, 0.50%, 0.75% dan 1%. Data dianalisis dengan ANOVA dan diuji lanjut dengan Uji Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi KCl yang efektif untuk pertumbuhan planlet kacang ercis dalam cekaman kekeringan yaitu sebesar 1%. Karakter morfologis dan fisiologis yang terbentuk akibat efek pemberian konsentrasi KCl pada planlet kacang ercis adalah meningkatnya tinggi planlet, berat basah, berat kering serta kandungan klorofil a, klorofil b maupun klorofil total.

Kata kunci: *Pisum sativum* L., cekaman kekeringan, *Poly Ethylene Glycol*, kalium, *in vitro*.

**PERAKITAN PLANLET KACANG ERCIS (*Pisum sativum* L.) HASIL
INDUKSI KALIUM DALAM CEKAMAN KEKERINGAN BERBASIS
BIOTEKNOLOGI SECARA *IN VITRO***

Oleh

MA'ANIA ZALZABILA

Skripsi

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

Pada

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



**PROGRAM STUDI BIOLOGI TERAPAN
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG**

2023

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : **PERAKITAN PLANLET KACANG ERCIS (*Pisum sativum* L.) HASIL INDUKSI KALIUM DALAM CEKAMAN KEKERINGAN BERBASIS BIOTEKNOLOGI SECARA *IN VITRO***

Nama Mahasiswa : **Ma'ania Zalzabila**

NPM : 1917061005

Jurusan/Program Studi : Biologi/Biologi Terapan

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

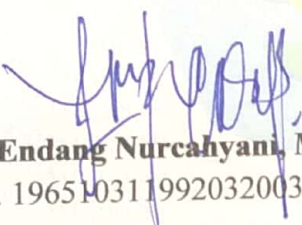
Bandar Lampung, 12 Juni 2023

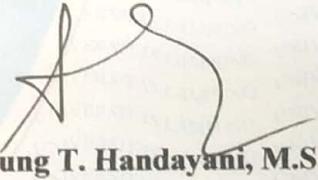
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

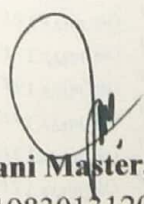
Pembimbing II


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


Dra. Tundjung T. Handayani, M.S.
NIP. 195806241984032002

2. Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi FMIPA

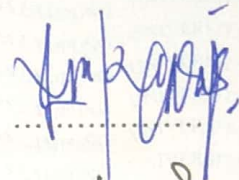

Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.
NIP. 198301312008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

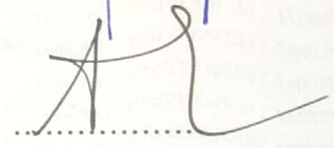
Ketua

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



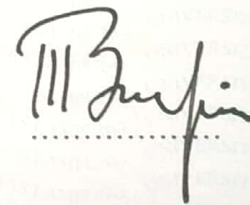
Sekretaris

: **Dra. Tundjung T. Handayani, M.S.**



Penguji

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



2. Dekan Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam



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

NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **14 April 2023**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ma'ania Zalzabila

NPM : 1917061005

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 dengan kata lain 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 mempertanggungjawabkan.

Bandar Lampung, 12 Juni 2023



Ma'ania Zalzabila

NPM. 1917061005

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bondowoso pada tanggal 12 Juni 2001 sebagai anak pertama dari empat bersaudara, dari pasangan Bapak Eddi Yusman dan Ibu Ummi Rosyida.

Penulis mulai menempuh Pendidikan di SD Negeri 01 Tanjung Senang pada tahun 2007. Pada tahun 2013, penulis melanjutkan Pendidikan di SMP Negeri 2 Tapani Kab.

Bondowoso dan melanjutkan Pendidikan lagi di SMA Negeri 1 Prajekan Kab.

Bondowoso pada tahun 2016. Pada tahun 2019, penulis diterima sebagai Mahasiswi Program Studi Biologi Terapan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menempuh Pendidikan sarjana, penulis pernah menjadi asisten praktikum Fitohormon di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Daerah Lampung pada bulan Januari – Februari 2022 dengan Judul **“Pemeriksaan Jumlah Hemoglobin pada Pasien Penderita**

Anemia Berdasarkan Jenis Kelamin Menggunakan Metode

Cyanmethemoglobin”. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada bulan Juni 2022 – Agustus 2022 di Desa Sukorahayu, Kecamatan Labuhan Maringgai, Kabupaten Lampung Timur. Penulis melaksanakan penelitian pada bulan November 2022 – Januari 2023 di Ruang Kultur *In Vitro*, Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

PERSEMBAHAN

Puji syukur kepada Allah SWT., yang telah memberikan nikmat kesehatan,
kemudahan serta kesabaran untuk menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini

kupersembahkan kepada:

Orangtua-ku tercinta yang dengan sabar selalu menyayangi, menyemangati,
memberi dukungan secara mental maupun finansial, dan tiada henti mendo'akan
kebaikan utukku dengan tulus,

Adik-adikku tersayang, yang selalu memberikan semangat dan motivasi,
Bapak dan Ibu Dosen pembimbing yang senantiasa bersabar dan tak pernah lelah
dalam membimbing dan memberikan ilmu yang bermanfaat,
Sahabat-sahabat seperjuanganku, yang selalu memberikan semangat, kritik, saran
dan kebahagiaan ditengah tengah proses perjuangan kita.

Serta almamaterku tercinta.

MOTTO

“Barang siapa bertakwa kepada Allah maka Dia akan menjadikan jalan keluar baginya, dan memberinya rezeki dari jalan yang tidak ia sangka, dan barang siapa yang bertawakal kepada Allah maka cukuplah Allah baginya, Sesungguhnya Allah melaksanakan kehendak-Nya, Dia telah menjadikan untuk setiap sesuatu kadarnya.”

(Q.S Ath-Thalaq: 2-3)

“..Allah tidak membebani seseorang itu melainkan sesuai dengan kesanggupannya..”

(Q.S Al-Baqarah: 286)

“The whole purpose of education is to turn mirrors into windows.”

(Sydney J. Harris)

SANWACANA

Puji syukur kehadiran Allah SWT., Tuhan semesta alam, yang telah memberikan berkat, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi ini. Shalawat serta salam turut penulis haturkan kepada Baginda Rasulullah Muhammad SAW., yang telah membawa kita dari zaman jahiliyah menuju zaman yang terang benderang dengan keislamannya hingga saat ini. Skripsi yang berjudul **“Perakitan Planlet Kacang Ercis (*Pisum sativum* L.) Hasil Induksi Kalium Dalam Cekaman Kekeringan Berbasis Bioteknologi Secara *In Vitro*”** dengan baik dan tepat pada waktunya.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari motivasi, bimbingan, masukan, arahan, nasehat, waktu dan perhatian yang tiada henti selama dalam penelitian, penulisan dan proses menyelesaikan studi. Penulis sangat menyadari bahwa selama proses penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Atas bantuan Allah SWT. dan pihak-pihak yang terlibat sehingga semua kendala dapat teratasi. Untuk itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang tinggi kepada:

1. Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu dengan sabar memberi masukan, arahan dan bimbingan kepada penulis saat pelaksanaan penelitian maupun saat proses pembuatan skripsi ini.
2. Ibu Dra. Tundjung T. Handayani, M.S., selaku dosen pembimbing kedua yang telah dengan sabar membimbing, memberi masukan serta arahan kepada penulis saat pelaksanaan penelitian maupun saat proses pembuatan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Bambang Irawan, M.Sc., selaku dosen pembahas yang telah sabar memberi masukan, arahan serta bimbingan kepada penulis dalam proses pembuatan skripsi ini.
4. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A.IP.M., selaku Rektor Universitas Lampung.

5. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
6. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
7. Ibu Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi S1 Biologi Terapan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
8. Ibu Dr. Sri Wahyuningsih, M.Si., selaku Kepala Laboratorium Botani, Jurusan Biologi FMIPA Unila beserta seluruh staff yang telah memberi izin, fasilitas dan bantuan kepada penulis selama melakukan penelitian.
9. Bapak Dr. Mahfut, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik.
10. Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi Terapan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung Periode 2019-2023.
11. Bapak Ibu Dosen serta staff yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas ilmu dan bimbingan yang diberikan kepada penulis selama menempuh Pendidikan di Jurusan Biologi.
12. Kedua orangtua-ku tercinta, Bapak Eddi Yusman dan Ibu Ummi Rosyida yang tidak henti-hentinya mendo'akan, menyemangati, menasehati, menguatkan dan mendukung penulis dengan sabar selama pelaksanaan penelitian dan pembuatan skripsi ini.
13. Adik-adikku tersayang, M. Farel Azali, M. Nagah Tara dan M. Gilda Al-farouq yang tidak henti-hentinya ikut mendo'akan, menyemangati dan mendukung penulis selama pelaksanaan penelitian dan pembuatan skripsi.
14. Keluarga besarku yang selalu memberikan semangat dalam mengerjakan skripsi.
15. Sahabat tersayang Azahra Putri Najla dan Ratna Oktaviani yang telah mendukung, menyemangati, memotivasi dan membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian dan pembuatan skripsi.
16. Teman-teman seperjuangan bioteknologi tumbuhan- kultur jaringan, Herlina, Rara, Ratna, Tarisa dan Nisa atas kerjasama, kebersamaan, kritik dan saran serta semangat yang telah diberikan kepada penulis.

17. Teman-teman seperjuangan Biologi Terapan Angkatan 2019 yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.
18. Kakak S2 (Kak Intan dan Kak Rina) seperjuangan bioteknologi tumbuhan-kultur jaringan, atas masukan, saran, motivasi dan bantuan dalam menuntun pelaksanaan penelitian.
19. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan, yang telah ikut serta membantu dalam penulisan skripsi ini.

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

Bandar Lampung, 12 Juni 2023

Penulis,

Ma'ania Zalzabila

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
HALAMAN JUDUL DALAM	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
MENGESAHKAN	iv
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
RIWAYAT HIDUP	vi
PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	viii
SANWACANA	ix
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
1.4 Kerangka Pemikiran.....	4
1.5 Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kacang Ercis (<i>Pisum sativum</i> L.).....	6
2.1.1 Asal Usul Kacang Ercis.....	6
2.1.2 Klasifikasi Kacang Ercis	6
2.1.3 Morfologi Kacang Ercis	7
2.1.4 Nilai Gizi Kacang Ercis.....	9
2.2 Kultur Jaringan.....	10
2.3 Respon Tanaman Terhadap Cekaman Kekeringan.....	11
2.4 <i>Poly Ethylene Glycol</i> (PEG)	12
2.5 Unsur Kalium.....	14

2.6 Klorofil.....	15
III. METODE PENELITIAN	17
3.1 Waktu dan Tempat	17
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	17
3.2.1 Alat-alat Penelitian	17
3.2.2 Bahan-bahan Penelitian	17
3.3 Rancangan Percobaan.....	18
3.4 Diagram Alir.....	18
3.5 Pelaksanaan Penelitian	20
3.5.1 Sterilisasi	20
3.5.2 Pembuatan Larutan PEG 6000 dan Larutan KCl	20
3.5.3 Persiapan Medium Seleksi	21
3.5.4 Persiapan Benih Kacang Ercis.....	22
3.5.5 Penyemaian Benih Kacang Ercis yang akan digunakan sebagai Eksplan Kecambah	23
3.5.6 Induksi Eksplan Kecambah Kacang Ercis dengan Larutan KCl ...	24
3.5.7 Penanaman.....	24
3.5.8 Pengamatan.....	24
3.6 Analisis Data	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Persentase Jumlah Planlet Hidup.....	28
4.2 Visualisasi Planlet.....	29
4.3 Tinggi Planlet.....	30
4.4 Berat Basah	32
4.5 Berat Kering.....	34
4.6 Kandungan Klorofil	36
V. KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan gizi per 100 gram kacang ercis	10
Tabel 2. Tata letak satuan percobaan	18
Tabel 3. Persentase jumlah planlet hidup kacang ercis.	28
Tabel 4. Persentase visualisasi planlet kacang ercis.....	29
Tabel 5. Rata-rata tinggi planlet kacang ercis.	31
Tabel 6. Rata-rata berat basah planlet kacang ercis	33
Tabel 7. Rata-rata berat kering planlet kacang ercis	35
Tabel 8. Rata-rata klorofil a planlet kacang ercis.....	37
Tabel 9. Rata-rata klorofil b planlet kacang ercis.....	38
Tabel 10. Rata-rata klorofil total planlet kacang ercis	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Tanaman kacang ercis.....	7
Gambar 2.	Bunga kacang ercis	8
Gambar 3.	Daun kacang ercis.....	8
Gambar 4.	Buah kacang ercis (a) & biji kacang ercis (b).....	9
Gambar 5.	Rumus Struktural <i>Poly Ethylene Glycol</i>	13
Gambar 6.	Diagram alir penelitian	19
Gambar 7.	Visualisasi planlet kacang ercis	30
Gambar 8.	Histogram rata-rata tinggi planlet kacang ercis	32
Gambar 9.	Histogram rata-rata berat basah planlet kacang ercis	34
Gambar 10.	Histogram rata-rata berat kering planlet kacang ercis	36
Gambar 11.	Histogram rata-rata klorofil a planlet kacang ercis.....	38
Gambar 12.	Histogram rata-rata klorofil b pada planlet kacang ercis.....	39
Gambar 13.	Histogram rata-rata klorofil total pada planlet kacang ercis.....	41
Gambar 14.	Sterilisasi alat.....	63
Gambar 15.	Menimbang bahan	63
Gambar 16.	Pembuatan larutan stok PEG 6000 dan KCl.....	66
Gambar 17.	Pembuatan medium seleksi.....	63
Gambar 18.	Penginduksian cekaman PEG 6000 pada media.....	63
Gambar 19.	Persiapan benih eksplan.....	63
Gambar 20.	Penginduksian KCl pada eksplan	64
Gambar 21.	Sterilisasi eksplan	64
Gambar 22.	Penanaman planlet.....	64
Gambar 23.	Penimbangan berat basah	64
Gambar 24.	Penimbangan berat kering	64
Gambar 25.	Ekstrak uji klorofil.....	64

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kacang ercis atau kapri (kacang polong) dengan nama ilmiah *Pisum sativum* L. merupakan tanaman penghasil polong yang dikonsumsi sebagai sayuran. Kacang ercis menjadi salah satu sumber protein sebesar 21.2% - 32.9%, karbohidrat sebesar 36.9% - 39%, vitamin A, vitamin B1, dan vitamin C oleh karena itu kacang ercis baik dikonsumsi bagi orang yang sedang menjalankan diet. Kandungan vitamin dan mineral kacang ercis dapat memainkan peran penting dalam pencegahan penyakit terkait defisiensi, khususnya yang berkaitan dengan defisiensi asam folat. Kacang ercis juga memiliki manfaat yang besar bagi kesehatan yaitu baik untuk meremajakan kulit, menurunkan kolestrol, dan mencegah osteoporosis. Selain itu, kacang ercis juga dapat menjaga kesuburan tanah karena kacang ercis dapat bersimbiosis dengan bakteri *Rhizobium* yang dapat mengikat nitrogen bebas dari udara. Peningkatan produksi kacang ercis memiliki arti penting dalam menunjang gizi masyarakat dan sekaligus berdaya guna bagi usaha menyuburkan dan meningkatkan produktivitas tanah (Dahl *et al.*, 2012).

Kacang ercis telah lama dikenal di Indonesia, khususnya di pulau Jawa. Penanaman kacang ercis dilakukan di daerah dengan ketinggian lebih dari 700 meter di atas permukaan laut. Beberapa wilayah yang banyak membudidayakan kacang ercis diantaranya adalah Jawa Timur, Jawa Barat, dan Sumatera Utara. Seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk Indonesia, maka peningkatan produksi dan kualitas tanaman kacang ercis perlu dipertahankan untuk memenuhi permintaan pasar.

Proses pertumbuhan dan produktivitas suatu tanaman dipengaruhi oleh ketersediaan air di dalam tanah, Selain tingkat kesuburan yang rendah, keterbatasan air juga menjadi permasalahan dalam bidang pertanian yang dapat menyebabkan usaha tani tidak dapat dilakukan sepanjang tahun. Salah satu upaya untuk menanggulangi permasalahan cekaman kekeringan adalah dengan pengelolaan unsur hara berupa kalium (K). Kalium merupakan unsur hara *essensial* bagi tanaman yang menjadi salah satu faktor penentu produktivitas tanaman. Peningkatan kandungan K di dalam jaringan tanaman akan mempengaruhi keseimbangan unsur hara lainnya, sebagaimana yang dilaporkan Filho *et al.* (2017) pada tanaman padi bahwa peningkatan level K berdampak pada terjadinya penurunan kandungan Ca dan Mg pada tanaman. Hal sebaliknya terjadi apabila tanaman dalam kondisi tercekam kekeringan dimana peningkatan unsur hara K akan meningkatkan serapan unsur hara Ca dan Mg pada tanaman (Tuna *et al.*, 2010).

Unsur kalium dapat bersumber dari alam dan non alam. Sumber kalium dari alam dapat diperoleh dari beberapa jenis mineral, sisa-sisa tanaman dan jasad renik, air irigasi, dan abu tanaman. Sumber kalium dari non alam dapat berasal dari pupuk buatan. Salah satu pupuk buatan yang sering digunakan adalah pupuk KCl. Hal ini disebabkan sifat KCl yang baik yaitu KCl seluruhnya dapat larut dalam air dan ketersediaannya yang mudah didapat, anion yang mengikutinya (Cl) tidak memberikan pengaruh negatif terhadap tanaman dan tanah jika diberikan dalam dosis yang normal. Sumber kalium yang terdapat dalam tanah berasal dari pelapukan mineral yang mengandung kalium. Makin dalam dari permukaan, kadar kalium makin rendah (Rahmelia, 2015).

Medium kultur tempat tumbuh bagi eksplan dapat menentukan tingkat keberhasilan suatu kultur jaringan. Salah satu syarat medium yang baik digunakan untuk kultur jaringan adalah harus mengandung nutrisi yang lengkap untuk menjamin pertumbuhan eksplan yang ditanam. Salah satu

medium yang umum digunakan dalam kultur jaringan yaitu medium dasar MS (*Murashige and Skoog*). Saat ini sudah banyak penelitian dengan menggunakan medium MS yang dimodifikasi. Modifikasi medium dimaksudkan untuk mengetahui kebutuhan hara yang tepat bagi planlet untuk tumbuh dan berkembang dengan optimal dan terbebas dari kontaminasi (Fauzy dkk, 2016).

Nurchayani dkk. (2020) telah melakukan penelitian dengan menggunakan perlakuan beberapa konsentrasi KCl yakni sebesar; 0%, 0.05%, 0.15% dan 0.25% pada planlet buncis yang tercekam 20% PEG 6000, akan tetapi sejauh ini masih belum ada penelitian yang dilakukan dengan memanfaatkan KCl untuk mendapatkan planlet kacang ercis yang tahan terhadap cekaman kekeringan yang menggunakan PEG 6000 sebagai agen simulasi cekaman kekeringan secara *in vitro*, oleh karena itu penelitian ini menarik untuk dikaji lebih lanjut.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini, sebagai berikut.

1. Mengetahui konsentrasi KCl yang efektif untuk pertumbuhan planlet kacang ercis (*Pisum sativum* L.) dalam cekaman kekeringan secara *in vitro*.
2. Mengetahui karakter morfologis dan fisiologis yang terbentuk akibat efek pemberian konsentrasi KCl pada planlet kacang ercis (*Pisum sativum* L.) dalam cekaman kekeringan secara *in vitro*.

1.3 Manfaat Penelitian

Melalui penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada petani bahwa unsur kalium dapat berperan dalam meningkatkan

produktivitas kacang ercis (*Pisum sativum* L.) pada lahan yang kering, dengan demikian diharapkan secara ilmiah penelitian ini dapat memberikan kontribusi dalam ilmu pengetahuan terutama dibidang pemuliaan tanaman.

1.4 Kerangka Pemikiran

Kacang ercis merupakan salah satu jenis kacang yang banyak diminati oleh masyarakat Indonesia, tanaman ini banyak diusahakan di Jawa Timur, Jawa Barat dan Sumatera Utara terutama daerah dataran tinggi dan bersuhu dingin. Seiring bertambahnya jumlah penduduk Indonesia maka permintaan akan jenis kacang ini terus meningkat pula. Selain itu, dengan adanya fenomena perubahan iklim global beserta dampak ikutan berupa peningkatan frekuensi kekeringan pada lahan akan berefek negatif terhadap pertumbuhan dan proses fisiologis serta produktivitas dari kacang ercis sehingga menyebabkan turunnya produksi kacang ercis dan harga jualnya menjadi mahal.

Salah satu solusi untuk mengatasi permasalahan lahan kekeringan adalah dengan menggunakan unsur kalium. Kalium berfungsi untuk mempertahankan kandungan air dalam jaringan tanaman dengan mengatur tekanan osmosis dan turgor, yang pada gilirannya akan memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan sel serta membuka dan menutupnya stomata. Penggunaan kalium ini dapat mencukupi kebutuhan air pada tanaman bahkan saat musim kemarau atau dalam keadaan tercekam kekeringan. Unsur kalium yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan memanfaatkan pupuk buatan KCl.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 5 taraf konsentrasi KCl yaitu sebesar; 0%, 0.25%, 0.50%, 0.75% dan 1% untuk perendaman yang akan digunakan. Parameter yang diamati yaitu persentase jumlah planlet

yang hidup, visualisasi planlet, tinggi planlet, berat basah, berat kering, dan kandungan klorofil.

1.5 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini, sebagai berikut.

1. Terdapat konsentrasi KCl yang efektif untuk pertumbuhan planlet kacang ercis (*Pisum sativum* L.) dalam cekaman kekeringan secara *in vitro*.
2. Terdapat karakter morfologis dan fisiologis yang terbentuk akibat efek pemberian konsentrasi KCl pada planlet kacang ercis (*Pisum sativum* L.) dalam cekaman kekeringan secara *in vitro*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kacang Ercis (*Pisum sativum* L.)

2.1.1 Asal Usul Kacang Ercis

Kacang ercis pertama kali ditemukan di Asia Barat Daya termasuk Afghanistan, India, Pakistan dan kemudian mulai menyebar ke daerah subtropis dan tropis (Majeed *et al.*, 2012). Kacang ercis dikenal dengan nama yang berbeda-beda di tiap negara, contohnya di negara Malaysia kacang ini dikenal sebagai kacang manis, di Inggris dikenal sebagai *peas*, di Cina dikenal sebagai *jia wan dou*, sedangkan di Indonesia lebih dikenal sebagai kacang ercis atau kacang kapri.

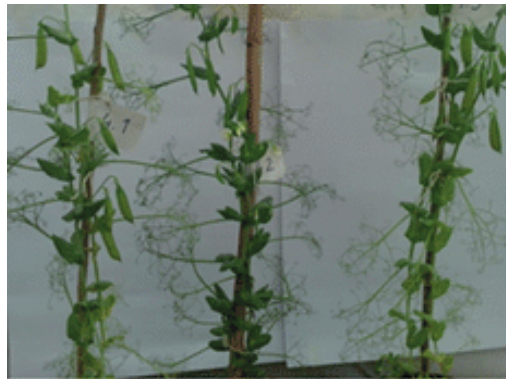
2.1.2 Klasifikasi Kacang Ercis

Berdasarkan data dari *Integrated Taxonomic Information System* (2016), klasifikasi tanaman kacang ercis sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Fabales
Familia	: Fabaceae
Genus	: <i>Pisum</i>
Species	: <i>Pisum sativum</i> L.

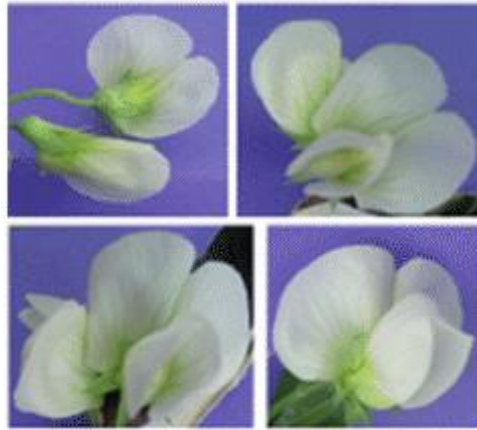
2.1.3 Morfologi Kacang Ercis

Kacang ercis termasuk tanaman herba yang berumur pendek sekitar 3 bulan sampai 3 ½ bulan. Setiap bagian dari kacang ercis dapat digunakan, biji polong yang muda dapat digunakan sebagai sayur sedangkan biji polong yang tua bisa digunakan sebagai bibit. Daun dari kacang ercis dapat digunakan sebagai pakan ternak atau pupuk hijau. Kacang ercis termasuk tanaman semak yang tumbuh dengan cara menjalar, memiliki batang yang panjang dan diujung cabangnya memiliki alat pembelit. Batang kacang ercis tumbuh memanjat dengan tangkai daunnya sehingga dalam penanamannya, kacang ercis membutuhkan lanjaran (Rukmana, 2003). Perawakan tanaman kacang ercis disajikan dalam **Gambar 1**.



Gambar 1. Perawakan tanaman Kacang Ercis (Ali *et al.*, 2018)

Kacang ercis memiliki bunga dengan kelopak yang berbentuk seperti hati dan berlapis, dalam satu bunga dapat tumbuh sekitar 2-3 helai atau lapisan kelopak bunga, warna bunga dari tanaman kacang ercis adalah putih kehijauan tetapi pada tanaman kacang ercis ungu bunga yang dimiliki adalah berwarna ungu kemerahan. Bunga kacang ercis termasuk bunga sempurna sehingga alat reproduksi jantan dan betina berada pada satu bunga yang sama (Rukmana, 2003). Bunga dari kacang ercis disajikan dalam **Gambar 2**.



Gambar 2. Bunga Kacang Ercis (Ali *et al.*, 2018)

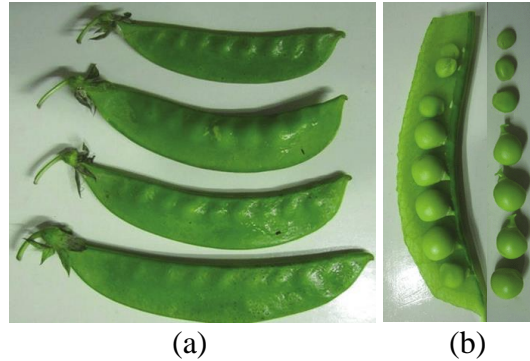
Daun dari tanaman kacang ercis berwarna hijau muda sampai hijau tua dan berbentuk oval. Dalam satu cabang, daun yang dapat tumbuh sekitar 2-6 helai daun dengan panjang kurang lebih antara 1.5-5.5 cm, sedangkan lebarnya dapat mencapai 1-3 cm. Daun-daun muda kacang ercis sering digunakan sebagai lalap mentah atau lalap masak (Rukmana, 2003). Daun kacang ercis disajikan dalam **Gambar 3**.



Gambar 3. Daun Kacang Ercis (Ali *et al.*, 2018)

Ukuran dari buah polong kacang ercis berkisar antara 4-15 cm untuk panjangnya sedangkan lebarnya berkisar antara 1-2.5 cm dengan berwarna hijau muda sampai hijau tua. Setiap buah polong kacang ercis dapat berisi 5-8 biji atau lebih. Bentuk biji polong kacang ercis sangat bervariasi, ada yang bulat, bundar dan ada yang berbentuk keriput. Ukuran dan tekstur biji kacang ercis juga bervariasi dari

kecil dan besar sampai halus dan kasar (Rukmana, 2003). Buah dan biji kacang ercis disajikan dalam **Gambar 4**.



Gambar 4. Buah Kacang Ercis (a) & Biji Kacang Ercis (b)
(Rungruangmaitree & Jiraungkoorskul, 2017)

2.1.4 Nilai Gizi Kacang Ercis

Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kenaikan jumlah permintaan suatu produk dipasar adalah kesadaran masyarakat akan pentingnya nilai gizi yang mencukupi bagi kesehatan tubuh. Sayur-sayuran merupakan jenis makanan yang dapat diandalkan untuk memenuhi kebutuhan gizi, vitamin maupun mineral. Rukmana (2003) menyatakan bahwa, salah satu sayuran yang telah memiliki kandungan gizi yang lengkap yaitu kacang ercis. Kandungan gizi yang terdapat dalam kacang ercis ditunjukkan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Kandungan gizi per-100 gram kacang ercis

No.	Kandungan gizi	Polong muda	Biji
1.	Kalori (kal.)	42.00	98.00
2.	Protein (g)	3.30	6.70
3.	Lemak (g)	0.20	0.40
4.	Karbohidrat (g)	9.00	17.70
5.	Serat (g)	-	-
6.	Kalsium (mg)	51.00	22.00
7.	Fosfor (mg)	85.00	122.00
8.	Natrium (mg)	-	-
9.	Kalium (mg)	-	-
10.	Zat besi (mg)	1.00	1.90
11.	Vitamin A (SI)	440.00	680.00
12.	Vitamin B-1 (mg)	0.20	0.34
13.	Vitamin B-12 (mg)	-	-
14.	Vitamin C (mg)	49.00	26.00
15.	Air (g)	86.80	74.30
16.	Bagian yang dapat dimakan (%)	80.00	45.00

Sumber: (Rukmana, 2003)

2.2 Kultur Jaringan

Yusnita (2015) menjelaskan bahwa kultur jaringan atau kultur *in vitro* merupakan suatu pembudidayaan tanaman secara aseptik dengan mengisolasi bagian tanaman seperti sel, jaringan atau organ. Teknik kultur jaringan telah banyak diaplikasikan dalam bioteknologi pertanian untuk mempelajari sitologi, fisiologi, genetika dan biokimia tanaman. Teknik ini didasari oleh teori sel Schwann dan Schleiden mengenai sifat totipotensi sel.

Macam-macam eksplan yang dapat digunakan dalam kultur *in vitro* antara lain pucuk, tunas, daun, akar, biji, kotiledon, hipokotil, buah serta bakal buah. Kelebihan menggunakan teknik kultur jaringan ini yaitu dapat

menghasilkan bahan tanam unggul secara massal dan cepat. Keuntungan lain yang terdapat pada teknik kultur jaringan yaitu produksi metabolit sekunder dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa dipengaruhi oleh cuaca (Henuhili, 2013).

Faktor utama yang mempengaruhi dalam perbanyakan dengan kultur jaringan adalah medium tanam. Medium tanam adalah tempat bagi jaringan untuk tumbuh dan menjadi sumber nutrisi yang mendukung kehidupan jaringan. Medium tanam kultur jaringan terdiri dari dua jenis yaitu medium cair dan medium padat. Medium dasar dibedakan berdasarkan komposisi dan kesesuaian untuk kebutuhan tanamannya, ada beberapa medium dasar antara lain medium dasar *Vacin & Went* (VW) yang diformulasikan untuk tanaman anggrek, medium dasar *Murashige and Skoog* (MS) yang diformulasikan untuk berbagai tanaman, Medium B5 atau *Gamborg* yang diformulasikan untuk kultur suspensi sel kedelai dan legume lainnya. Medium dasar tersebut dapat dimodifikasi sesuai dengan kebutuhan dengan menambahkan vitamin dan ZPT (Nurchayani, 2022). Menurut Fauzy dkk. (2016), medium yang digunakan dalam kultur jaringan haruslah mengandung unsur hara makro, mikro, vitamin dan zat pengatur tumbuh. Medium yang paling umum dan hampir dapat digunakan untuk sebagian besar tanaman adalah medium *Murashige and Skoog* (MS).

2.3 Respon Tanaman Terhadap Cekaman Kekeringan

Cekaman kekeringan adalah suatu kondisi dimana kadar air di tanah berada pada kondisi yang minimum untuk pertumbuhan dan produksi suatu tanaman (Purwanto dan Agustono, 2010). Cekaman kekeringan dapat mengakibatkan laju penyerapan air oleh akar tanaman menurun. Penurunan ini akan mengakibatkan gangguan pada pertumbuhan tanaman, terutama pada jaringan yang sedang dalam proses pertumbuhan (Prihastanti, 2010).

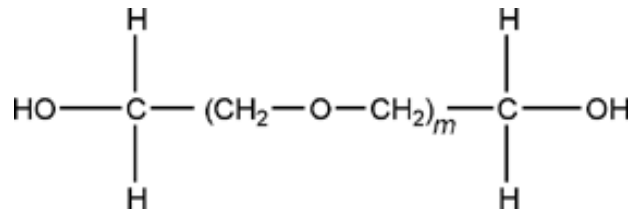
Yugi dan Harjoso (2012) menyatakan bahwa, respon tanaman yang mengalami cekaman kekeringan berawal dari respon secara fisiologis yang merupakan serangkaian proses dalam tanaman, yang diikuti oleh perubahan morfologis baik sebagai mekanisme ketahanan tanaman maupun dampak dari proses akibat cekaman kekeringan. Perubahan morfologis juga berdampak terhadap perubahan proses fisiologis lanjutan, sehingga terjadi saling pengaruh antar keduanya. Perubahan-perubahan tersebut diekspresikan tanaman dalam bentuk pola pertumbuhan yang pada berpengaruh terhadap laju fotosintesis, bobot biomassa, perubahan ekspresi gen, hasil dan komponen hasil tanaman.

Cekaman kekeringan menyebabkan penurunan kandungan klorofil pada daun sebesar 45%, dan dapat mengakibatkan peningkatan kelayuan tanaman (penggulungan daun), namun pengaruh langsung yang besar terhadap hasil tanaman pada kondisi cekaman kekeringan adalah pada bobot kering akar dengan nilai koefisien lintas 0.63 dan pada hasil penelitian tanaman tomat, cekaman kekeringan mempengaruhi rerata jumlah buah, rerata bobot buah, dan rerata diameter buah (Yugi dan Harjoso, 2012).

2.4 Poly Ethylene Glycol (PEG)

Poly Ethylene Glycol (PEG) memiliki nama kimia α -Hydro- ω -hidroxypol (oxy-1,2-ethanediyl). Beberapa nama lain *Polyethylene Glycol* dalam bidang farmasi adalah: *Lipoxol*, *Lutrol E*, *Macrogola*, *Carbowax*, *PEG* dan *Pluriol E. Polyethylene glycol*. *Poly Ethylene Glicol* mempunyai beberapa bentuk fisik yang didasarkan atas berat molekulnya, bentuk PEG berdasarkan berat molekulnya adalah: PEG 200-600 cair, PEG 1500 semi padat, dan PEG 3000-20000 atau lebih berupa padatan semi kristalin, dan PEG dengan BM lebih besar dari 100000 berbentuk seperti resin pada

suhu kamar (Rowe, 2009). Rumus struktural dari PEG disajikan dalam **Gambar 5**.



Gambar 5. Rumus struktural *Poly Ethylene Glycol* (Rowe, 2009)

Poly Ethylene Glycol (PEG) 6000 berupa serbuk putih atau potongan putih gading, tidak berbau dan tidak berasa, mudah larut dalam air, etanol (95%) dan kloroform, namun PEG tidak dapat larut dalam eter. PEG 6000 memiliki titik beku pada suhu 56 °C sampai 63 °C. PEG 6000 harus disimpan pada wadah yang tertutup rapat (Rowe, 2009).

Mariska & Lestari (2006) menyatakan bahwa, PEG 6000 dapat menstimulasi cekaman kekeringan karena sifatnya yang dapat menyerap air. Tujuan penggunaan PEG 6000 dalam medium *in vitro* adalah diharapkan dapat menciptakan kondisi osmotik yang setara dengan kondisi lapangan mulai dari kelembaban tanah dan titik kritis pada air sehingga eksplan dapat menunjukkan respon yang sama dengan respon tanaman yang mengalami cekaman kekeringan langsung di lapangan.

Poly Ethylene Glicol 6000 merupakan zat kimia yang bersifat non toksis dengan berat molekul tinggi. Pada konsentrasi tertentu, PEG 6000 dapat menginduksi kondisi kekurangan air sebagaimana yang terjadi pada tanah kering (Mirbahar *et al.*, 2013). Penggunaan PEG 6000 untuk mengidentifikasi toleransi kekeringan telah banyak dilakukan pada tanaman pangan seperti padi, gandum, jagung, dan kedelai. Berbagai penelitian telah dilakukan dan didapatkan hasil bahwa penggunaan PEG 6000 dengan konsentrasi 20-25% setara dengan kondisi lapangan dimana

fase perkecambahan dan pertumbuhan bibit memasuki fase potensial dan kritis terhadap cekaman kekeringan (Ahmad *et al.*, 2009).

2.5 Unsur Kalium

Unsur hara kalium banyak terdapat dalam tanah, namun hanya sebagian kecil yang dapat diserap oleh tanaman dalam bentuk larutan yang larut dalam air atau yang dapat dipertukarkan (dalam koloid tanah). Koloid liat dan humus dapat melakukan pertukaran ion, yaitu pertukaran kation-kation yang terjerap dengan kation-kation yang terdapat bebas di dalam tanah (Azzamy, 2015). Sumber kalium yang terdapat dalam tanah berasal dari pelapukan mineral yang mengandung kalium. Makin dalam dari permukaan, kadar kalium makin rendah (Rahmelia, 2015).

Kalium berperan penting dalam proses metabolisme pada sel tanaman. Kalium mempunyai peranan penting dalam mensintesis asam amino dan protein dari ion ammonium dan juga menyintesis lemak. Unsur kalium juga penting dalam proses fotosintesis. Jika tanaman kekurangan unsur K pada daun, maka akan menurunkan kemampuan asimilasi CO₂ (Winangun, 2005).

Pupuk kalium berperan dalam membantu pembentukan protein dan karbohidrat, meningkatkan resistensi tanaman terhadap penyakit dan meningkatkan kualitas biji/buah. Kalium diserap dalam bentuk K⁺ (terutama pada tanaman muda), kalium banyak terdapat pada sel-sel muda atau bagian tanaman yang banyak mengandung protein. Zat ini terdapat sebagai ion di dalam cairan sel dan merupakan bagian yang penting dalam melaksanakan turgor sel yang disebabkan oleh tekanan osmosis (Hidayat & Mulyani, 2002). Menurut Maemunah (2003), ada bagian-bagian tanaman dimana kalium dapat mendorong produksi karbohidrat, sehingga dapat mengurangi kepekaan tanaman terhadap kekeringan. Hal tersebut

karena kalium membantu pengisapan air oleh akar dan mencegah penguapan air dari daun.

Pupuk umum yang paling banyak digunakan adalah KCl. Hal ini disebabkan sifat KCl yang baik yaitu KCl seluruhnya dapat larut dalam air dan ketersediaannya yang mudah didapat, anion yang mengikutinya (Cl) tidak berapa memberikan pengaruh negatif terhadap tanah. Kebutuhan tanaman akan unsur kalium cukup tinggi. Apabila K tersedia dalam jumlah terbatas maka gejala kekurangan unsur ini segera nampak pada tanaman (Nyakpa, 1988).

2.6 Klorofil

Istilah klorofil berasal dari bahasa Yunani yaitu *Chloros* artinya hijau dan *Phyllos* artinya daun. Klorofil adalah pigmen pemberi warna hijau pada tumbuhan, alga dan bakteri fotosintetik. Senyawa ini yang berperan dalam proses fotosintesis tumbuhan dengan menyerap dan mengubah tenaga cahaya matahari menjadi tenaga kimia. Terdapat 3 fungsi utama dari klorofil yaitu yg pertama memanfaatkan energi matahari, kedua memicu fiksasi CO₂ menjadi karbohidrat dan yang ketiga menyediakan dasar energetik bagi ekosistem secara keseluruhan. Karbohidrat yang dihasilkan fotosintesis melalui proses anabolisme diubah menjadi protein, lemak, asam nukleat, dan molekul organik lainnya (Scheer, 2006).

Menurut Song & Banyo (2011), terdapat dua macam klorofil yaitu klorofil a (C₅₅H₇₂O₅N₄Mg) yang berwarna hijau tua dan klorofil b (C₅₅H₇₀O₆N₄Mg) yang berwarna hijau muda. Klorofil a dan klorofil b paling banyak menyerap cahaya merah (600-700 nm), dan paling sedikit menyerap cahaya hijau (500-600 nm). Klorofil adalah komponen utama dari kloroplas untuk proses fotosintesis, semakin tinggi kandungan klorofil maka makin tinggi pula tingkat fotosintesis yang terjadi. Kondisi cekaman

kekeringan akan mempengaruhi perubahan fungsi metabolisme terutama mengurangi sintesis klorofil. Salah satu respon fisiologis pada tanaman yang tercekam kekeringan adalah penurunan konsentrasi klorofil pada daun sebab jika suatu tanaman kekurangan asupan air yang cukup maka pembentukan klorofil akan terhambat (Nurchayani dkk., 2019).

Ketersediaan air dan unsur hara dalam tanah berperan penting dalam proses sintesis klorofil. Kadar air pada daun dapat mempertahankan jumlah maksimum kadar klorofil, klorofil akan meningkat saat hujan dan akan menurun saat kondisi tanah gersang oleh sebab itu kandungan klorofil dapat dijadikan parameter dalam mengukur ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan (Homayoun *et al.*, 2011).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2022 hingga bulan Januari 2023 di Laboratorium Botani (Ruang Kultur *In Vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF) merk ESCO, timbangan analitik, kamera ponsel, spektrofotometer, oven, botol kultur 250 ml, erlenmeyer 100 ml dan 2 liter, gelas beaker 1000 ml, cawan petri diameter 10 cm, corong, kuvet, gunting, pipet ukur, pinset, gelas ukur 100 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mortar, penumbuk dan kertas pH.

3.2.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih kacang ercis, *tissue*, plastik *wrap*, akuades, alkohol 70%, etanol 95%, *bayclin*, kertas label, *aluminium foil*, kertas saring, medium *Murashige & Skoog* (MS), *Poly Ethylene Glycol* 6000 (PEG), KCl, sukrosa, agar, HCl dan KOH.

3.3 Rancangan Percobaan

Metode penelitian ini disusun dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu konsentrasi KCl yang terdiri dari 5 taraf perlakuan: 0%, 0.25%, 0.50%, 0.75% dan 1%. Penelitian ini dilakukan dengan 5 kali pengulangan dengan tiap ulangan terdiri dari 3 eksplan kacang ercis dalam satu botol kultur. Tata letak satuan percobaan disajikan dalam **Tabel 2**.

Tabel 2. Tata letak satuan percobaan

K5U4	K1U3	K3U2	K3U1	K1U4
K3U3	K1U1	K4U5	K1U5	K3U4
K4U1	K5U3	K2U3	K5U5	K5U2
K4U3	K5U1	K4U2	K3U5	K2U4
K2U5	K2U2	K1U2	K4U4	K2U1

Keterangan:

K1 = Konsentrasi KCl 0%

K2 = Konsentrasi KCl 0.25%

K3 = Konsentrasi KCl 0.50%

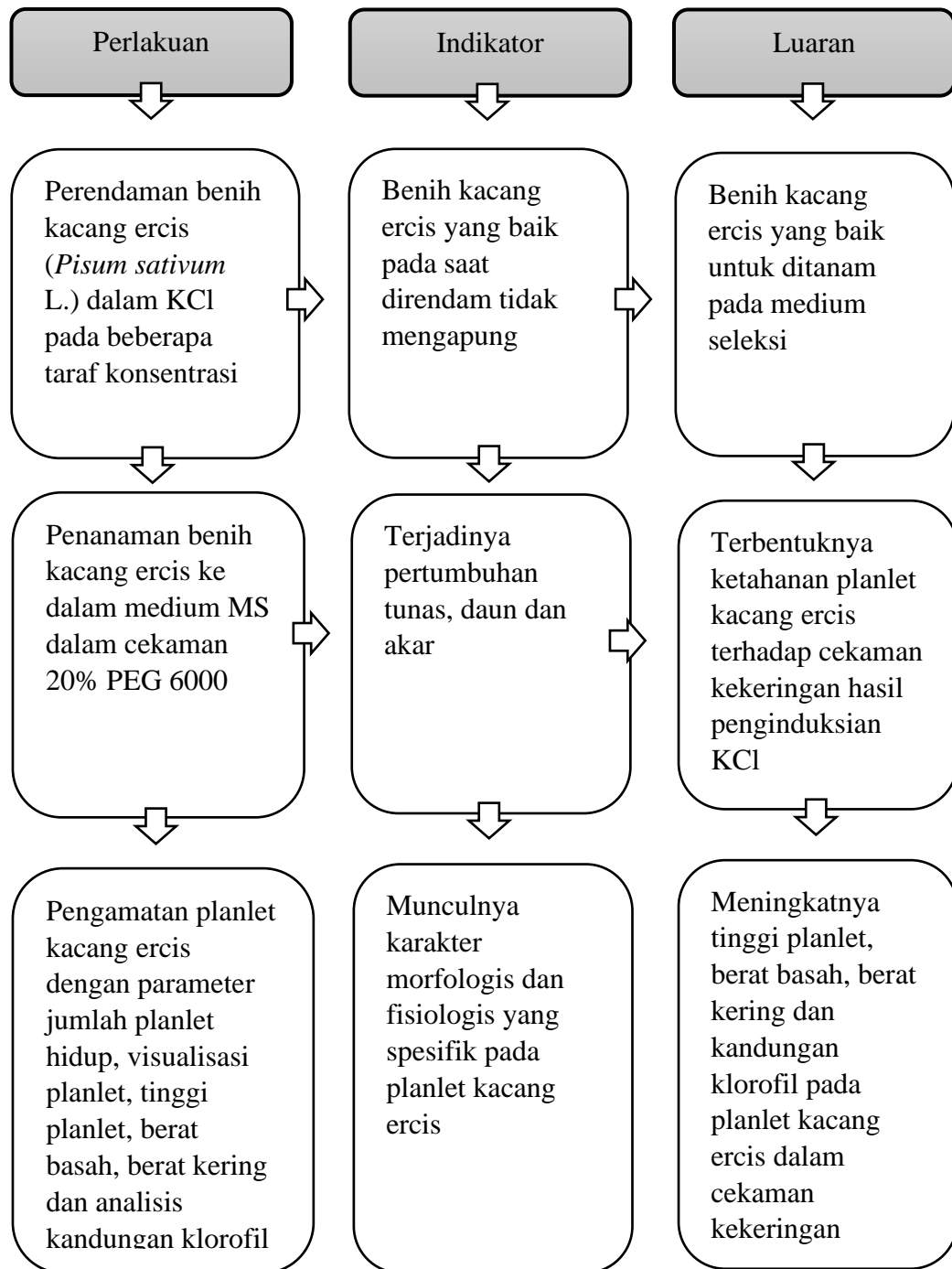
K4 = Konsentrasi KCl 0.75%

K5 = Konsentrasi KCl 1%

U1-U5 = Ulangan ke-1 sampai ke-5

3.4 Diagram Alir

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, yaitu: 1) Persiapan benih kacang ercis dengan perendaman pada konsentrasi KCl yang telah ditentukan, 2) Penanaman benih kacang ercis ke dalam medium MS yang telah diberi cekaman 20% PEG 6000, 3) Analisis karakter morfologis dan fisiologis yang spesifik pada planlet kacang ercis resisten terhadap cekaman kekeringan. Bagan alir penelitian ini disajikan pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Diagram alir penelitian

3.5 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini melalui beberapa tahapan sebagai berikut.

3.5.1 Sterilisasi

a. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terlebih dahulu dicuci menggunakan deterjen dan dibilas dengan air bersih, kemudian alat-alat akan dibungkus dengan kertas dan selanjutnya akan disterilkan ke dalam autoklaf pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C selama 20 menit. Pada proses penanaman, alat-alat penanaman berupa pinset dan lain-lain akan direndam dengan menggunakan alkohol 70%. Setelah direndam, alat akan dikeringkan terlebih dahulu kemudian akan dipanaskan diatas api bunsen dengan tujuan agar alat tetap steril selama proses penanaman eksplan berlangsung.

b. Sterilisasi Ruang Kerja

Sterilisasi ruang kerja dilakukan di dalam ruang inkubasi dengan menggunakan disinfektan dan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Sinar UV dinyalakan selama 5 menit, setelah itu dinyalakan *blower* dan lampu, kemudian disemprotkan alkohol 70% pada permukaan LAF dan dibersihkan dengan menggunakan *tissue* steril.

3.5.2 Pembuatan Larutan PEG 6000 dan Larutan KCl

a. Pembuatan larutan 20% PEG 6000 untuk 1L medium seleksi

Langkah awal yang harus dilakukan adalah membuat larutan stok PEG 6000 dengan konsentrasi sebesar 100%, dengan cara melarutkan 100 gram bubuk PEG 6000 kedalam 100 ml akuades steril. Medium seleksi yang akan digunakan dalam penelitian ini

adalah medium MS sebanyak 1 liter (1000 ml) dengan cekaman PEG 6000 sebesar 20%, maka banyaknya volume larutan stok 100% PEG 6000 yang diperlukan untuk membuat 1L medium seleksi dengan cekaman 20% PEG 6000 akan dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

Keterangan:

- V_1 = Volume larutan PEG 6000 yang harus dicari (ml)
- M_1 = Konsentrasi awal larutan stok PEG 6000 (%)
- V_2 = Volume medium seleksi yang akan dibuat (ml)
- M_2 = Konsentrasi larutan PEG yang akan digunakan untuk membuat medium seleksi (%)

Berdasarkan perhitungan (**Lampiran 8**), maka untuk membuat 1L medium seleksi dengan konsentrasi PEG 6000 sebesar 20% memerlukan 200 ml larutan stok 100% PEG 6000. Diperlukan 2 kali pembuatan larutan stok PEG 6000 dengan konsentrasi 100%, hal ini dikarenakan setiap satu kali pemuatan larutan stok 100% PEG 6000 hanya menghasilkan volume sebanyak 100 ml.

b. Larutan KCl dengan berbagai konsentrasi sebagai perlakuan

Larutan KCl akan dibuat dalam beberapa taraf konsentrasi yaitu 0%, 0.25%, 0.50%, 0.75% dan 1%. Bubuk KCl ditimbang sesuai dengan kebutuhan pada masing masing konsentrasi berdasarkan perhitungan pada (**Lampiran 8**) kemudian dilarutkan pada 100 ml akuades steril dan dihomogenkan. Setelah larutan homogen, larutan tersebut akan disaring.

3.5.3 Persiapan Medium Seleksi

Medium seleksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium *Murashige & Skoog* (MS) padat. Pembuatan medium MS sebanyak 1 liter adalah dengan cara menyiapkan erlenmeyer berukuran 2L, lalu 200 ml larutan stok 100% PEG 6000 yang telah disiapkan

sebelumnya dimasukkan dan ditambahkan akuades hingga batas volume 800 ml. Setelah itu medium MS yang telah ditimbang sebanyak 4.43 gram dimasukkan lalu larutan dihomogenkan. Setelah homogen, 30 gram sukrosa dimasukkan kedalam larutan medium dan ditambahkan akuades lagi sampai batas volume 980 ml. Larutan kembali dihomogenkan kemudian diukur pH nya dengan menggunakan kertas lakmus, pH yang baik untuk medium seleksi adalah berkisar antara 5.5-5.6, jika pH medium seleksi terlalu asam tambahkan KOH dan sebaliknya jika pH medium seleksi terlalu basa tambahkan HCl.

Saat pH medium seleksi sudah mencapai pH yang optimum, akuades ditambahkan kembali sampai batas volume 1000 ml. Setelah itu agar dimasukkan sebagai pematat sebanyak 7 gram. Larutan dihomogenkan kembali, kemudian dipanaskan sampai larutan medium seleksi mendidih dan berwarna bening. Setelah itu, larutan medium seleksi dimasukkan kedalam botol kultur sebanyak 20 ml per botolnya. Sebanyak 1L medium seleksi yang dibuat akan dihasilkan total 50 botol kultur. Medium seleksi disterilisasi dengan menggunakan autoklaf dengan tekanan 1 atm pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah disterilisasi, medium seleksi diinkubasi selama 7 hari untuk memastikan medium seleksi dapat digunakan dan terbebas dari kontaminasi.

3.5.4 Persiapan Benih Kacang Ercis

a. Seleksi Benih Viabel

Benih kacang ercis lebih dulu diseleksi antara benih yang viabel dan benih yang tidak viabel dengan cara direndam pada air selama 5-10 menit. Benih yang tidak viabel akan terapung dipermukaan air sehingga benih tersebut harus disingkirkan. Setelah itu, benih yang viabel akan dipilih sebanyak 100 biji dikarenakan pada tiap konsentrasi perlakuan terdapat 5 kali

pengulangan dan tiap botol kultur akan ditanam 3 eksplan kacang ercis sehingga total benih yang diperlukan adalah sebanyak 75 biji dengan 25 biji lainnya adalah benih cadangan, kemudian benih akan direndam pada akuades steril selama 24 jam, hal ini dilakukan untuk memudahkan proses imbibisi yang berguna bagi perkecambahan benih kacang ercis yang akan ditanam. (Endang Nurcahyani, komunikasi pribadi).

b. Sterilisasi Benih Kacang Ercis

Benih kacang ercis yang telah direndam selama 24 jam kemudian dibilas menggunakan akuades steril. Setelah itu benih direndam dengan *bayclin* 10% selama 3 menit, lalu benih kacang ercis dibilas kembali dengan menggunakan aquades steril sebanyak 2 kali pengulangan. Setelah disterilisasi, benih disimpan didalam cawan petri. Semua kegiatan ini dilakukan pada ruang steril didalam, LAF *cabinet*.

3.5.5 Penyemaian Benih Kacang Ercis yang akan digunakan sebagai Eksplan Kecambah

Benih kacang ercis yang telah disterilisasi akan disemai pada media kapas steril. Penyemaian benih dilakukan dengan meletakkan kapas steril kedalam cawan petri lalu dibasahi dengan menggunakan akuades steril hingga kondisi kapas menjadi lembab. Setelah itu benih kacang ercis disusun diatas kapas, kemudian bagian atas benih kacang ercis dilapisi juga dengan menggunakan kapas lembab. Tutup cawan petri dan lapisi dengan plastik *wrap*. Kemudian benih akan diinkubasi selama 2 hari hingga berkecambah. Semua kegiatan ini dilakukan pada ruang steril didalam LAF *cabinet* (Endang Nurcahyani, komunikasi pribadi).

3.5.6 Induksi Eksplan Kecambah Kacang Ercis dengan Larutan KCl

Unsur kalium yang digunakan untuk merendam/menginduksi eksplan kecambah kacang ercis adalah KCl dengan 5 taraf konsentrasi 0%, 0.25%, 0.50%, 0.75% dan 1%. Kecambah kacang ercis direndam terlebih dahulu pada masing masing konsentrasi larutan KCl selama 30 menit (Mooduto dkk., 2013). Setelah itu eksplan kecambah kacang ercis dipindahkan kedalam cawan petri untuk kemudian ditanam pada medium seleksi. Semua kegiatan ini dilakukan pada ruang steril didalam LAF *cabinet*.

3.5.7 Penanaman

Kecambah kacang ercis (*Pisum sativum* L.) yang telah diinduksi beberapa taraf konsentrasi KCl ditanam pada medium seleksi MS dengan cekaman 20% PEG 6000. Proses penanaman ini dilakukan di dalam LAF *cabinet*. Dalam satu botol kultur ditanami 3 kecambah kacang ercis sehingga total kecambah kacang ercis yang ditanam pada 25 botol kultur adalah sebanyak 75. Setelah ditanam, kecambah kacang ercis tersebut kemudian ditumbuhkan hingga menjadi planlet pada ruang inkubasi selama 3 minggu.

3.5.8 Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada 1 eksplan dari total 3 eksplan yang ada didalam satu botol kultur selama rentang waktu 3 minggu setelah proses penanaman, hal ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas unsur kalium (KCl) dalam pertumbuhan dan perkembangan kacang ercis yang mengalami cekaman kekeringan secara *in vitro* dengan parameter sebagai berikut.

1) Persentase Jumlah Planlet yang Hidup

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

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

2) Visualisasi Planlet

Menurut Nurcahyani dkk. (2014), visualisasi planlet diamati dengan klasifikasi warna sebagai berikut: hijau, hijau cokelat dan cokelat. Data visualisasi planlet disajikan dalam bentuk persentase, yang dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

3) Tinggi Planlet

Pengamatan tinggi planlet pada eksplan kacang ercis setelah diberi perlakuan berbagai taraf konsentrasi KCl dalam cekaman 20% PEG 6000 dilakukan setiap seminggu sekali. Tinggi planlet kacang ercis diukur dengan menggunakan penggaris dan diukur dari pangkal batang sampai ujung batang.

4) Pengukuran Berat Basah

Pengukuran berat basah planlet dilakukan pada minggu ke-3 (21 hari setelah penanaman). Seluruh bagian planlet kacang ercis yang akan diukur berat basahnya dicabut dan dibersihkan dari medium agar kemudian di timbang beratnya menggunakan timbangan analitik.

5) Pengukuran Berat Kering

Pengukuran berat kering tanaman dilakukan pada minggu ke-3 (21 hari setelah penanaman). Planlet kacang ercis yang telah diukur berat basahnya akan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 80 °C selama 2 hari sampai planlet mencapai

berat yang konstanta. Selanjutnya planlet ditimbang kembali menggunakan timbangan analitik dan dicatat hasilnya sebagai berat kering.

6) Analisis Kandungan Klorofil

Analisis kandungan klorofil dilakukan dengan menggunakan metode menurut Miazek (2002), dengan cara menggerus 0.1 gram kacang ercis dalam mortar, kemudian ditambahkan 10 ml etanol 95%. Ekstrak lalu disaring dan dimasukkan kedalam erlenmeyer. Sisa gerusan yang masih tertinggal didalam saringan kemudian digerus dan disaring kembali. Volume disesuaikan menjadi 100% dengan menambahkan etanol 95%. Setelah itu ekstrak dihitung kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total. Kandungan klorofil ditentukan dengan cara diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 648 dan 664 nm.

Kandungan klorofil dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{Chl}_a = 13.36 A_{664} - 5.19 A_{648} \left(\frac{v}{w \times 1000} \right)$$

$$\text{Chl}_b = 27.43 A_{648} - 8.12 A_{664} \left(\frac{v}{w \times 1000} \right)$$

$$\text{Chl}_{\text{total}} = 22.24 A_{648} + 5.24 A_{664} \left(\frac{v}{w \times 1000} \right)$$

Keterangan:

Chl_a = klorofil a

Chl_b = klorofil b

$\text{Chl}_{\text{total}}$ = klorofil total

A_{664} = absorbansi pada panjang gelombang 664 nm

A_{648} = absorbansi pada panjang gelombang 648 nm

V = volume etanol 95%

W = berat kacang ercis

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet kacang ercis selama seleksi secara *in vitro* terhadap cekaman kekeringan 20% PEG 6000 berupa data

kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan didukung oleh dokumentasi foto. Data kuantitatif dari setiap perlakuan dianalisis ragam ANOVA pada taraf nyata 5% dan dilanjutkan dengan uji BNJ pada taraf nyata 5% jika terdapat beda nyata dari setiap perlakuan (Nurchayani dkk., 2019).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini, sebagai berikut.

1. Konsentrasi KCl yang efektif untuk pertumbuhan planlet kacang ercis (*Pisum sativum* L.) dalam cekaman kekeringan secara *in vitro* adalah 1%.
2. Karakter morfologis dan fisiologis yang terbentuk akibat efek pemberian KCl pada planlet kacang ercis (*Pisum sativum* L.) yang tahan terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro* adalah meningkatnya tinggi tanaman, berat basah, berat kering, serta kandungan klorofil a, klorofil b maupun klorofil total.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai karakterisasi planlet kacang ercis (*Pisum sativum* L.) tahan terhadap cekaman kekeringan dengan menggunakan parameter lain seperti kerapatan stomata, kandungan karbohidrat terlarut total dan uji molekular.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, S., Ahmad, R., Ashraf, M.Y., Ashraf, M., & Waraich, E.A. 2009. Sunflower (*Helianthus annuus* L.) response to drought stress at germination and seedling growth stages. *Pak. J. Bot.* 41(2):647-654.
- Ali, Z., Saeed, W., Naseem, S., Ahmad, F., Akrem, A., Yasmeen, N., & Jacobsen, H.J. 2018. Phenotypic evaluation of transgenic peas (*Pisum sativum* L.) harboring AtNHX1 demonstrates stable gene expression and conserved morphology in subsequent generations. *Turkish Journal of Botany.* 42(2): 1-9.
- Dahl, W. J., Foster, L. M. & Tyler, R. T. 2012. Review of benefit health of pea (*Pisum sativum* L.). *Br. J. Nutr.* 108(1): S1-S10.
- Fauzi, W. R., & Putra, E. T. S. 2019. Dampak Pemberian Kalium Dan Cekaman Kekeringan Terhadap Serapan Hara Dan Produksi Biomassa Bibit Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit*, 27(1): 41–56.
- Fauzy E., Mansyur & Husni A. 2016. Pengaruh Media *Murashige and Skoog* (MS) dan Vitamin Terhadap Tekstur, Warna, dan Berat Kalus Rumpuk Gajah (*Pennisetum purpureum*) CV. Hawaii Pasca Radiasi Sinar Gamma pada Dosis Ld50 (*In Vitro*). *Skripsi*. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Filho, A.C.D.A.C., Cruscio, C.A.C., Nascente, A.S., Mauad, M. & Garcia, R.A. 2017. Influence of potassium levels on root growth and nutrient uptake of upland rice cultivars. *Rev. Caatinga, Mossoró.* 30(1): 32 – 44.
- Henuhili, V. 2013. *Kultur Jaringan Tanaman*. UNY Press. Yogyakarta. 88 hlm.
- Hidayat, A. & Mulyani, A. 2002. *Lahan Kering untuk Pertanian. Dalam Teknologi Pengelolaan Lahan Kering*. Badan Litbang Deptan, Bogor. 152 hlm.
- Homayoun, H., Daliri, M. S., & Mehrabi, P. 2011. Effect of Drought Stress on Leaf Chlorophyll in Corn Cultivars (*Zea mays*). *Middle-East Journal of Scientific Research.* 9(3): 418-420.
- ITIS. 2016. Integrated Taxonomic Information System – Report of *Pisum sativum* L. Taxonomic Serial No: 26867. Geological Survey, VA, USA.

https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=26867#null diakses pada 11 Oktober 2022 pukul 20:34 WIB.

- Maemunah. 2003. Pengaruh Takaran dan Waktu Pemberian Kalium Terhadap Kualitas Jagung. *Jurnal Penelitian Agroland*. 10(2): 162-166.
- Majeed, H., Safdar, W., Ali, B., Mohammad, A., Ahmad, I., & Mumtaz, A. 2012. Genetic Assessment of the Genus *Pisum* L. Based on Sequence Specific Amplification Polymorphism Data. *Journal of Med Plants Res*. 6(9): 59-67.
- Mariska, I. & Lestari E. G. 2006. *Seleksi In Vitro untuk Toleransi Terhadap Faktor Abiotik pada Tanaman Padi dan Kedelai*. Prosiding Seminar Nasional: *Pemanfaatan Bioteknologi untuk Mengatasi Cekaman Abiotik pada Tanaman*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor. 22(9): 28-41.
- Miazek, K. 2002. *Chlorophyll Extraction From Harvested Plant Material*. Supervisor: Prof. dr. hab inz Stanislaw Ledakowics.
- Mirbahar, A. A., Saeed, R., & Markhand, G. S. 2013. Effect of polyethylene glycol-6000 on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination. *Int. J. Biol. Biotech*. 10(1):401-405.
- Mooduto, L., Bagu, F. & Limonu, M. 2013. Teknik Pematihan Benih dengan Berbagai Konsentrasi dan Lama Perendaman Kalium Nitrat (KNO₃) Terhadap Perkecambah Palem Ekor Tupai (*Woodyetia bifurcata*). *Jurnal Agroteknologi*. 12(4): 15-20.
- Nurchayani, E., Hadisutrisno, B., Sumardi, I. & Suharyanto, E. 2014. *Identifikasi Galur Planlet Vanili (Vanilla planifolia Andrews) Resisten Terhadap Infeksi Fusarium oxysporum f. sp. vanilla Hasil Seleksi In Vitro dengan Asam Fusarat*. Prosiding Seminar Nasional: *Pengendalian Penyakit pada Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan*. Perhimpunan Fitopatologi Indonesia Komda Joglosemar-Fakultas Pertanian UGM. ISBN 978-602-71784-0-3./2014 Hal. 272-279.
- Nurchayani, E., Mutmainah N. A., Farisi S., & Agustrina R. 2019. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Menggunakan Metode Fenol-Sulfur Secara *In Vitro*. *Jurnal Analit*. 4(1): 73-80.
- Nurchayani, E., Alfiah, D., Wahyuningsih, S. & Mahfut. 2020. Analisis Kandungan Karbohidrat pada Planlet Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Secara *In Vitro* Hasil Induksi Kalium dalam Cekaman Kekeringan. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*. 5(1): 34-41.

- Nurchayani, E. 2022. *Varietas Unggul Vanili Tahan Busuk Batang; Berbasis Teknik Molekular dan Induced Resistance*. Plantaxia. Yogyakarta. 68 hlm.
- Nyakpa, M.Y. 1988. *Kesuburan Tanah*. Universitas Lampung. Lampung. 258 hlm.
- Prihastanti, E. 2010. Kandungan Klorofil Dan Pertumbuhan Semai Kakao (*Theobroma cacao* L.) Pada Perlakuan Cekaman Kekeringan Yang Berbeda. *BIOMA*. 12(2):35-39.
- Purwanto & Agustono, T. 2010. Kajian fisiologi tanaman kedelai pada kondisi cekaman kekeringan dan berbagai kepadatan gulma teki. *Jurnal Agrosains*, 12(1): 24-28.
- Rahmelia, D., Diah, A. W. M., & Said, I. 2015. Analisis Kadar Kalium (K) dan Kalsium (Ca) dalam Kulit dan Daging Buah Terung Kopek Ungu (*Solanum melongena*) Asal Desa Nupa Bomba Kecamatan Tanantovea Kabupaten Donggala. *J. Akad. Kim.* 4(3): 143-148.yu
- Rukmana, R. 2003. *Usaha Tani Kapri*. Kanisius. Yogyakarta. 64 hlm.
- Rungruangmaitree, R. & Jiraungkoorskul, W. 2017. Pea, Pisum sativum, and Its Anticancer Activity. *Journals of Pharmacognosy Reviews*. 11(21): 39-42.
- Rowe, R.C. 2009. *Handbook Of Pharmaceutical Excipients, 5th Ed*. The Pharmaceutical Press, London. 685 hlm.
- Scheer, H. 2006. An Overview of Chlorophyll and Bacteriochlorophyll: Biochemistry, Biophysics, Function and Applications. *Springer Science*. 25(1):1-26.
- Song, A. N., & Banyo, Y. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air Pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*. 11(2): 166 – 173.
- Subaedah, S., Aladin, A., & Nirwana. 2016. Fertilization of nitrogen, phosphor and application of green manure of *Crotalaria juncea* in increasing yield of maize in marginal dry land. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 9(2):20–15.
- Syakir, M. & Gusmaini. 2012. Pengaruh Penggunaan Sumber Pupuk Kalium Terhadap Produksi Dan Mutu Minyak Tanaman Nilam. *Littri*. 18(2): 60-65.
- Tuna, A.L., C. Kaya, & M. Ashraf. 2010. Potassium sulfat improves water defisit tolerance in melon plants frown under glasshouse conditions. *Journal of Plant Nutrition*. 33(9):1276 –1286.

- Yugi A. R & Harjoso. T. 2012. Karakter Hasil Biji Kacang Hijau pada Kondisi Pemupukan P dan Intensitas Penyiangan Berbeda. *J. Agrivigor*. 11(2):137- 143.
- Yusnita. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman Pisang*. Anugrah Utama Raharja. Bandar Lampung. 50 hlm.
- Yulhasmir. 2009. Respon Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Kacang Tanah (*Arachis hypogea*. L) Terhadap Dosis dan Waktu Pemberian Pupuk KCL. *Jurnal AgronobiS*. 1(2):1-11.