

**EFEKTIFITAS KONSENTRASI LARUTAN ATONIK TERHADAP
PERTUMBUHAN EKSPAN KACANG HIJAU (*Vigna radiata* L.)
DALAM KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN
MENGUNAKAN PEG 6000 SECARA *IN VITRO*
PADA MEDIUM *MURASHIGE AND SKOOG***

(Skripsi)

Oleh

**SISKA EMILIA PUTRI
1917021004**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

EFEKTIFITAS KONSENTRASI LARUTAN ATONIK TERHADAP PERTUMBUHAN EKSPLAN KACANG HIJAU (*Vigna radiata* L.) DALAM KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN MENGUNAKAN PEG 6000 SECARA *IN VITRO* PADA MEDIUM *MURASHIGE AND SKOOG*

Oleh

SISKA EMILIA PUTRI

Atonik menjadi salah satu senyawa organik yang secara alami disintesis oleh tanaman dan mempengaruhi proses fisiologis pada tumbuhan serta golongan auksin yang berbentuk cair. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas dari konsentrasi larutan atonik pada pertumbuhan eksplan kacang hijau (*Vigna radiata* L.) secara *in vitro* dalam kondisi cekaman kekeringan, yang diinduksi oleh PEG 6000 pada konsentrasi yang berbeda. Penelitian ini dilaksanakan bulan Maret-April 2023 Ruang Kultur Jaringan Tumbuhan, Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Rancangan penelitian ini disusun dengan pola dasar Rancangan Acak Lengkap 3x3 dengan dua faktor; faktor pertama yaitu larutan atonik dengan tiga taraf konsentrasi yaitu 0 ml/l (A0), 1 ml/l (A1), 2 ml/l (A2) dan faktor kedua yaitu PEG 6000 b/v dengan tiga taraf konsentrasi yaitu 0% (B0), 3% (B1), 4% (B2) dengan 3 kali pengulangan. Data dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* pada taraf 5% data dilanjutkan dengan uji BNT pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara larutan atonik dengan PEG 6000 terhadap pertumbuhan dan kandungan klorofil planlet kacang hijau (*Vigna radiata* L.). Pemberian atonik 2 ml/l mampu meningkatkan tinggi planlet tanaman dan klorofil pada kondisi tidak tercekam kekeringan. Namun, konsentrasi larutan atonik 1 ml/l dan 2 ml/l belum mampu meningkatkan pertumbuhan planlet kacang hijau yang tercekam kekeringan secara *in vitro*.

Kata Kunci : Atonik, *In Vitro*, Pertumbuhan, *Poly Ethylene Glycol*, *Vigna radiata* L.

ABSTRACT

EFFECTIVENESS OF ATONIC SOLUTION CONCENTRATION ON THE GROWTH OF GREEN BEAN EXPLANT (*Vigna radiata* L.) UNDER DROUGHT SPECIAL CONDITIONS USING PEG 6000 IN VITRO ON MEDIUM *MURASHIGE AND SKOOG*

By

SISKA EMILIA PUTRI

Atonik is an organic compound that is naturally synthesized by plants and influences physiological processes in plants as well as the auxin group which is in liquid form. This study aims to determine the effectiveness of atonic solution concentrations on the growth of green bean (*Vigna radiata* L.) explants *in vitro* under drought stress conditions, which are induced by PEG 6000 at different concentrations. This research was carried out in March-April 2023 in the Plant Tissue Culture Room, Botany Laboratory, Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung. This research design was prepared using the basic pattern of a 3x3 Completely Randomized Design with two factors; The first factor is atonic solution with three concentration levels, namely 0 ml/l (A0), 1 ml/l (A1), 2 ml/l (A2) and the second factor is PEG 6000 w/v with three concentration levels, namely 0% (B0), 3% (B1), 4% (B2) with 3 repetitions. Data were analyzed using Analysis of Variance at the 5% data level followed by the BNT test at the 5% level. The results showed that there was an interaction between the atonic solution and PEG 6000 on the growth and chlorophyll content of green bean plantlets (*Vigna radiata* L.). Giving atonic 2 ml/l was able to increase plantlet height and chlorophyll in conditions not affected by drought. However, atonic solution concentrations of 1 ml/l and 2 ml/l were not able to increase the growth of green bean plantlets that were stressed by drought *in vitro*.

Keywords: Atonik, *In Vitro*, Growth, *Poly Ethylene Glycol*, *Vigna radiata* L.

**EFEKTIFITAS KONSENTRASI LARUTAN ATONIK TERHADAP
PERTUMBUHAN EKSPLAN KACANG HIJAU (*Vigna radiata* L.)
DALAM KONDISI CEKAMAN KEKERINGAN
MENGUNAKAN PEG 6000 SECARA *IN VITRO*
PADA MEDIUM *MURASHIGE AND SKOOG***

Oleh
Siska Emilia Putri

Skripsi

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

pada

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



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Efektifitas Konsentrasi Larutan Atonik Terhadap
Pertumbuhan Eksplan Kacang Hijau (*Vigna
Radiata L.*) Dalam Kondisi Cekaman
Kekeringan Menggunakan Peg 6000 Secara *In
Vitro* Pada Medium *Murashige And Skoog*

Nama Mahasiswa : **Siska Emilia Putri**
NPM : 1917021004
Jurusan / Program Studi : Biologi / S1 Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

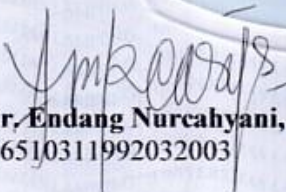
Bandar Lampung, 22 April 2024

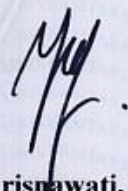
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

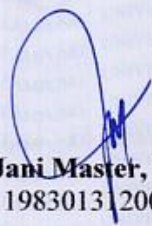
Pembimbing I

Pembimbing II


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


Lili Chrisnawati, S.Pd., M.Si.
NIP. 198808102019032014

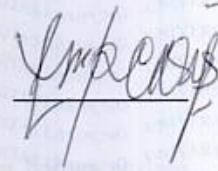
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA UNILA


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

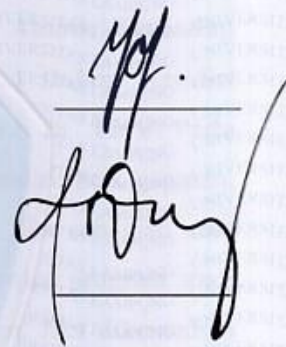
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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



Sekretaris : **Lili Chrisnawati, S.Pd., M.Si.**



Anggota : **Rochmah Agustrina, Ph.D.**

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **16 Januari 2024**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Siska Emilia Putri
NPM : 1917021004
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya bahwa skripsi saya yang berjudul "**Efektivitas Konsentrasi Larutan Atonik Terhadap Pertumbuhan Eksplan Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Dalam Kondisi Cekaman Kekeringan Menggunakan PEG 6000 Secara *In Vitro* Pada Medium *Murashige and Skoog*" adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, metode, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya, saya bersedia jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan. Jika dikemudian hari terbukti pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia mempertanggungjawabkannya.**

Bandar Lampung, 22 April 2024

Yang menyatakan,

A handwritten signature in black ink is written over a 1000 Rupiah stamp. The stamp is yellow and red, with the number '1000' and the word 'SERIBU' visible. The signature is written in a cursive style.

Siska Emilia Putri

NPM. 1917021004

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Labuhan Ratu, Lampung Timur, Provinsi Lampung pada tanggal 11 April 2000, sebagai anak pertama dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak Ahmad Sukri dan Ibu Holida.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di Taman Kanak-Kanak Pertiwi Labuhan Ratu VIII pada tahun 2005. Pada tahun 2007, penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Dasar Negeri 1 Labuhan Ratu VIII. Pada tahun 2013 penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama Negeri 2 Labuhan Ratu VIII. Pada tahun 2016 penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Labuhan Ratu.

Pada tahun 2019, penulis tercatat sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung melalui Jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Kultur Jaringan Tumbuhan. Penulis juga aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota Bidang ekspedisi 2020-2021. Penulis aktif mengikuti Organisasi Sains dan Teknologi (SAINTEK) Universitas sebagai anggota Divisi Humas 2020- 2021. Penulis aktif mengikuti Organisasi Badan Ekstusif Mahasiswa (BEMF) tingkat Fakultas sebagai anggota Divisi (PSDM) 2021-2022. Penulis aktif mengikuti Organisasi Ikatan Mahasiswa Lampung Timur (IKAM LAMTIM) sebagai anggota Divisi PSDM 2021-2022.

Penulis melaksanakan Kerja Praktik di Balai Pelatihan Pertanian Lampung (BPPL) dengan judul "**Pengamatan Pertumbuhan Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) Dengan Teknik Wiwil dan Non Wiwil di Balai Pelatihan Pertanian Lampung (BPPL)**". Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata pada Bulan Juli-Agustus 2022 di Desa Negeri Agung, Kecamatan Gunung Pelindung, Kabupaten Lampung Timur. Penulis melaksanakan penelitian pada bulan Maret-April 2023 di ruang Kultur Jaringan Tumbuhan, Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

PERSEMBAHAN

Segala puji hanya milik ALLAH SWT, yang telah memberikan segala kenikmatan, shalawat serta salam terlimpah kepada Nabi Muhammad SAW, sehingga karya ini dapat terselesaikan.

Papa (Ahmad Sukri) yang selalu memberikan semangat dukungan yang tiada henti dan Mama (Holida) yang telah memverikan cinta dan kasih sayangnya serta do'a yang tak putus-putusnya, selalu memberikan semangat dan mengajarkan untuk menjadi pribadi yang kuat serta adik (Muhammad Zeen Putra dan Syafrudin Al Khudri) yang terus memberi dukungan dan memotivasi untuk terus berkarya.

Para dosen yang telah mendidik dan mengajari hingga hari ini dengan dedikasi dan keikhlasanya

Sahabat-sahabat, rekan-rekan seperjuangan yang banyak memberikan pengalaman berharga, yang selalu ada untuk saling mengingatkan dan saling menguatkan

Dan untuk seseorang yang telah Allah siapkan yang kelak akan menjadi pelengkap dalam hidup ini

Almamaterku tercinta

MOTTO

**Mulai Dengan Keyakinan
Jalani Dengan Keihklasan
Selesaikan Dengan Kebahagiaan**

Siska Emilia Putri

SANWACANA

Assalamualaikum . wr. wb.

Puji syukur kepada Allah SWT atas limpahan rahmat, hidayah, karunia dan nikmat-Nya yang tak terhitung sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "*Efektifitas Konsentrasi Larutan Atonik Terhadap Pertumbuhan Eksplan Kacang Hijau (Vigna radiata L.) Dalam Kondisi Cekaman Kekeringan Menggunakan PEG 6000 Secara In Vitro Pada Medium Murashige and Skoog*"

Shalawat teriring salam semoga tercurahkan kepada Rosulullah SAW beserta keluarga dan sahabat serta umatnya di akhir zaman, Amin. Dengan terselesaikannya skripsi ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang tinggi kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Endang Nurcahyani, M.Si. selaku dosen pembimbing utamayang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran, memberikan arahan, saran, serta memotivasi dalam membimbing penulis dalam penelitian hingga terselesainya skripsi ini.
2. Ibu Lili Chrisnawati, S.Pd., M.Si. selaku dosen pembimbing kedua atas dedikasi, arahan, saran, dan semangat kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.

3. Ibu Rochmah Agustina, Ph.D selaku dosen pembahas atas segala bimbingan, motivasi, saran, serta semangat kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.
4. Bapak Wawan Abdullah Setiawan, M.Si. selaku pembimbing akademik atas bimbingan, kritik, dan sarannya kepada penulis dalam menempuh pendidikan di Jurusan Biologi.
5. Kepala Laboratorium Botani, Jurusan Biologi FMIPA Unila beserta seluruh staf teknisi, yang telah memberikan izin, fasilitas, dan bantuannya selama penulis melaksanakan penelitian.
6. Ketua Jurusan Biologi FMIPA, Dekan FMIPA, dan Rektor Universitas Lampung.
7. Bapak Ibu Dosen yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, terimakasih atas bimbingan dan ilmu yang telah diberikan selama penulis melaksanakan studi di Jurusan Biologi.
8. Rekan seperjuangan penelitian Naila Ulya Azhari, Fauzia Rahmawati, Sarah, Kishy Dhea Herlanda, Ranita Oktavianti, Wanda Amelia, Resta Tania. Terimakasih untuk kerjasamanya, kebersamaan, semangat, saran dan kritik serta do'anya selama menjalani penelitian.
9. Kedua orang tua Papa Ahmad Sukri terimakasih telah membimbing, mengajari dan memberikan dukungan yang selalu menjadi acuan semangat penulis untuk bisa menyelesaikan karya ini. Mama Holida yang telah memberikan seluruh tenaga, pikiran, semangat, dukungan serta do'a yang tiada hentinya, nasehat-nasehat sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.

10. Adik- adikku Muhammad Zeen Putra dan Syafrudin Al Khudri serta seluruh keluarga besar terimakasih telah menjadi penyemangat, memberikan dukungan dan do'a nya untuk penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

11. Sahabat terbaik semasa kuliah Naila Ulya Azhari, Salimah Johariah Nuraini, Syifa Riandani Azzahra, Upik Mailiani, Leni Agustin, Dilla Nurlela, Hania Fahrani, Mala Irma Pramita, Muhammad Ilyas terimakasih atas kebersamaan selama ini dari awal masuk perkuliahan hingga akhir selalu ada untuk penulis.

12. Sahabat seperjuangan Biologi Angkatan 2019 yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih atas kebersamaan, dukungan serta do'a nya selama ini.

13. Kakak tingkat Biologi 2017, 2018, adik-adik tingkat 2020, 2021, 2022 dan seluruh Wadya Ballad HIMBIO yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih kebersamaan dan pembelajaran yang sangat berarti bagi penulis.

14. Juanda Werdana, terimakasih atas dukungan, bantuan, serta do'anya kepada penulis.

15. Keluarga besar KKN Lampung Timur, Kecamatan Gunung Pelindung, Desa Negeri Agung. Juanda Werdana, Abid Shabila Zulian Salasiah, Anjeli Dahlena Putri, Mala Irma Pramita, Chyntia Bella Laureta, Eunike Hana Grasia, Alma Rashifah Agustin, Jensa Yuswantoro, Ahmad Andressta Aswanto, Putri Fadiyah, Richo Ardi Darmawan, Yogi Dwi Saputra, Fazri Husnul Hidayat, Septa Merando Dimas Angga Yuda, Fitri Desviana, Sayidah Kharizah, terimakasih untuk pengalaman, pembelajaran, serta kebersamaan.

16. Seluruh Keluarga Besar Kost Pondok Ratu Della, Lusi, Ayu, Nindia terimakasih atas ukhuwah yang selalu ada untuk saling membantu dan mengingatkan.

17. Sahabat-sahabatku Lexxi Alistiani, Oktarini, Selvia Indah Lestari, Novita Sari, Nuraini terimakasih untuk dukungan dan do'a untuk penulis.

18. Serta semua pihak yang telah membantu, mempermudah dan mendo'akan penulis dalam melaksanakan penelitian ini.

19. Almamater Tercinta.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan yang jauh dari kesempurnaan dalam penulisan ini, akan tetapi besar harapan semoga hasil tulisan ini dapat berguna dan bermanfaat bagi semua.

Wasalamualaikum. wr. wb.

Bandar Lampung, 22 April 2024
Penulis,

Siska Emilia Putri

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK	ii
LEMBAR PENGESAHAN	vi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR TABEL.....	xix
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.	4
1.3 Kerangka Pemikiran.....	4
1.4 Hipotesis.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kacang Hijau (<i>Vigna radiata</i> L.)	6
2.1.1 Sejarah Kacang Hijau.....	6
2.1.2 Klasifikasi dan Morfologi Kacang Hijau.	7
2.1.3 Kandungan Gizi dan Manfaat Kacang Hijau.....	8
2.2 Syarat Tumbuh.....	10
2.3 Medium <i>Murashige and Skoog</i>	11
2.4 Kultur Jaringan.....	11
2.5 Larutan Atonik	12
2.6 Pertumbuhan Eksplan Kacang Hijau.	12
2.7 Klorofil Tanaman Kacang Hijau	13
2.8 <i>Poly Ethylene Glycol</i> (PEG).....	13

III. METODE PENELITIAN.....	14
3.1 Waktu dan Tempat.	14
3.2 Alat dan Bahan.	14
3.3 Rancangan Penelitian.	15
3.4 Bagan Alir Penelitian	16
3.5 Pelaksanaan Penelitian.	17
3.6 Pengamatan.	20
3.7 Analisis Data.	21
VI. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
4.1 Presentase Jumlah Planlet dan Visualisasi Planlet....	23
4.2 Uji Tinggi Planlet Kacang Hijau... ..	27
4.3 Uji Kandungan Klorofil Daun Kacang Hijau... ..	30
4.3.1 Uji Klorofil a	30
4.3.2 Uji Klorofil b... ..	32
4.3.3 Uji Klorofil Total.....	33
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran... ..	37
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN.....	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar

	Halaman
1. Tanaman Kacang Hijau (<i>Vigna radiata</i> L.)	8
2. Biji Kacang Hijau (<i>Vigna radiata</i> L.)	10
3. Bagan Alir Penelitian... ..	18
4. Planlet Kacang Hijau Setelah Umur 2 Minggu	26
5. Kurva Hasil Perlakuan Larutan Atonik dan PEG Setiap Konsentrasi Pada Tinggi Tanaman Planlet Kacang Hijau.....	28
6. Kurva Interaksi Larutan Atonik dan PEG Setiap Konsentrasi Pada Kandungan Klorofil a Planlet Kacang Hijau.....	32
7. Kurva Interaksi Larutan Atonik dan PEG Setiap Konsentrasi Pada Kandungan Klorofil b Planlet Kacang Hijau.....	34
8. Kurva Interaksi Larutan Atonik dan PEG Setiap Konsentrasi Pada Kandungan Klorofil Total Planlet Kacang Hijau... ..	36
9. Sterilisasi Alat	57
10. Sterilisai Biji Kacang Hijau	57
11. Penimbangan Medium	58
12. Pembuatan Medium Seleksi PEG	58

13. Penimbangan Daun Planlet Kacang Hijau	59
14. Penanaman Biji Kacang Hijau Secara <i>In Vitro</i>	59
15. Pengamatan Pertumbuhan Planlet.....	50
16. Larutan Klorofil Daun Kacang Hijau.....	50

DAFTAR TABEL

Tabel

	Halaman
1. Kandungan Gizi Dalam 100 g Kacang Hijau.....	9
2. Notasi Faktor Taraf Kombinasi Perlakuan.....	15
3. Tata Letak Satuan Percobaan	16
4. Persentase Jumlah Planlet Hidup	24
5. Persentase dan Visualisasi Planlet Kacang Hijau	25
6. Uji Tinggi Planlet Kacang Hijau selama 2 Minggu Setelah Perlakuan Kombinasi Atonik dan PEG 6000	27
7. Uji Kandungan Klorofil a Planlet Kacang Hijau Selama 2 Minggu Setelah Perlakuan Kombinasi Atonik dan PEG 6000	31
8. Uji Kandungan Klorofil b Planlet Kacang Hijau Selama 2 Minggu Setelah Perlakuan Kombinasi Atonik dan PEG 6000	33
9. Uji Kandungan Klorofil Total Planlet Kacang Hijau Selama 2 Minggu Setelah Perlakuan Kombinasi Atonik dan PEG 6000.....	35

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu teknik perbanyak tumbuhan yang banyak dikembangkan saat ini adalah teknik kultur jaringan tumbuhan. Kultur jaringan tumbuhan adalah metode untuk mengisolasi bagian tanaman, seperti sel, jaringan, tunas apikal serta biji, dan menumbuhkan dalam kondisi aseptik menjadi tanaman yang lengkap dengan kualitas lebih baik. Istilah kultur jaringan digunakan untuk menjelaskan semua prosedur kultur yang dilakukan secara aseptik terkait sel, jaringan, organ, embrio, dan pertumbuhan planlet. Pertumbuhan berlangsung dalam kondisi steril dan dengan lingkungan kultur yang dikondisikan, oleh karena itu metode ini disebut kultur *in vitro* (Rahayu dkk., 2011).

Metode kultur jaringan didasarkan pada alasan bahwa suatu tanaman dapat dipisahkan ke dalam bagian-bagian komponennya seperti organ, jaringan, ataupun sel yang dapat ditanam secara *in vitro*. Menurut Santoso, (2004) kultur jaringan memiliki dua prinsip dasar yang jelas yaitu tanaman yang bersifat totipotensi dan budidaya yang terkendali. Konsep dasar ini adalah mutlak dalam pelaksanaan kultur jaringan karena dengan sifat totipotensi ini, sel, jaringan, organ yang digunakan akan mampu tumbuh dan berkembang sesuai tujuan budidaya *in vitro* yang dilakukan. Sifat totipotensi saja tidak cukup untuk keberhasilan kultur jaringan, keadaan medium tempat tumbuh atau lingkungan yang mempengaruhinya

seperti kelembaban, temperatur, dan cahaya serta keharusan sterilisasi adalah hal mutlak yang harus terkendali (Santoso dkk., 2004).

Keberhasilan kultur jaringan sangat tergantung pada medium yang akan digunakan dan zat pengatur tumbuh, karena tidak semua eksplan tanaman dapat tumbuh dalam media tanam yang sama, oleh karena itu jenis dan komposisi medium sangat menentukan keberhasilan perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Beberapa jenis medium seperti medium *Murashige and Skoog* yang digunakan untuk pertumbuhan biji, medium *Vacin Went* untuk anggrek, dan medium *Woody Plant Medium* untuk tanaman berkayu. Medium *Murashige and Skoog* merupakan jenis medium yang paling banyak digunakan untuk berbagai tujuan kultur jaringan (Sharaf dkk., 2006).

Eksplan dapat berupa ujung tunas bagian batang, bagian daun, ujung akar, bagian biji (Caponetti dkk., 2005). Dalam pertumbuhannya, eksplan memerlukan zat pengatur tumbuh untuk mengaktifkan penyerapan unsur hara. Zat pengatur tumbuh yang dapat digunakan adalah Zat Pengatur Tumbuh Atonik. Larutan atonik berupa larutan senyawa kimia pekat, berwarna hitam pekat tidak beracun, dan tidak berbahaya bagi ekosistem manusia, hewan, dan lingkungan sekitar. Atonik mengandung bahan aktif yaitu hormon auksin (Yunita, 2009). ZPT ini mampu menstimulasi perkembangan sel-sel meristem untuk tumbuh dan berkembang, meningkatkan perkembangan akar, serta memacu pertumbuhan tunas. Senyawa dinitrophenol pada atonik dapat mengaktifkan penyerapan hara dan memacu tumbuhnya kuncup pada tumbuhan. Oleh karenanya atonik menjadi salah satu zat pengatur tumbuh yang dapat meningkatkan ketahanan. Mekanisme penggunaan Zat Pengatur Tumbuh atonik dilakukan dengan cara merendam biji kacang hijau sesuai dengan taraf konsentrasi (Hidayanto dkk., 2010).

Cekaman kekeringan termasuk stress abiotik yang berpengaruh negatif terhadap berkembangnya tanaman. Kondisi kekeringan dapat menghambat pembelahan sel, mengurangi tekanan turgor, mencegah transpirasi dan penyerapan bahan mineral yang dapat menurunkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman, hal ini dianggap sebagai faktor pembatas dalam produksi tanaman (Simsek, 2018). Tidak adanya air merupakan tekanan abiotik yang berpengaruh negatif pada tanaman karena tumbuh kembangnya terhambat. Hal ini dikarenakan air berperan penting dalam proses fotosintesis dan hidrolisis (Sirait dan Charloq, 2017).

Kekeringan dapat menyebabkan pengurangan jumlah daun secara signifikan, menurunkan berat kering tanaman, mempengaruhi tinggi tanaman, dan diameter batang (Handayani dkk., 2018). Respon kekeringan pada tanaman juga menyebabkan menurunnya fungsi stomata untuk berkerja dengan baik. sehingga mengganggu pertukaran gas selain itu kekurangan air juga menghambat pembelahan sel (Nurcahyani dkk., 2022). Hal ini dapat mengurangi produktivitas tanaman sehingga menyebabkan kematian (Osmolovskaya dkk., 2018).

Kultur *in vitro* dengan penambahan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) pada medium dapat mengendalikan kondisi kekeringan. *Poly Ethylen Glycol* (PEG) 6000 adalah senyawa non ion yang bersifat stabil. Bentuknya padat yang dapat larut dalam air, mampu mengikat molekul air bersama ikatan hydrogen, memiliki kemampuan untuk menurunkan potensial osmotik serta membentuk lapisan tipis yang melindungi biji atau menyangga kadar air dan keluar masuknya oksigen (Hapsari dkk., 2017). Rendahnya potensial air pada medium dapat menyebabkan penurunan kemampuan sel dalam membelah, untuk itu disarankan menggunakan PEG dengan berat molekul 6000 dan ini tidak mengakibatkan racun pada tanaman. Penggunaan berbagai konsentrasi dan berat molekul PEG memengaruhi baik tidaknya penurunan potensial air dalam medium (Azizah, 2010). Pada molekul PEG bekerja dengan memasuki dinding sel atau jalur apoplast (transpor air secara

difusi) sehingga air diambil dari dinding sel. Oleh karena itu, PEG dapat digunakan sebagai agen penyeleksi tanaman secara *in vitro* dengan tingkat toleransi kekeringan yang baik (Hapsari dkk., 2017).

Berdasarkan uraian diatas maka dalam penelitian ini larutan atonik diberikan sebagai ZPT untuk pertumbuhan kacang hijau secara *in vitro* dengan kondisi cekaman kekeringan yang diinduksi oleh PEG, dimana masing - masing memberikan peran tersendiri terhadap pertumbuhan tanaman. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan memberikan perlakuan berbagai konsentrasi pada atonik dan PEG untuk mengetahui konsentrasi yang paling efektif pada pertumbuhan eksplan kacang hijau.

1.2 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui konsentrasi larutan atonik yang optimum terhadap cekaman kekeringan untuk seleksi planlet kacang hijau.
2. Mengetahuin interaksi antara larutan atonik dengan PEG 6000 terhadap kandungan klorofil dan pertumbuhan planlet kacang hijau.

1.3 Kerangka Pemikiran

Kultur jaringan merupakan salah satu cara perbanyakan tanaman dengan cara mengisolasi bagian-bagian atau organ tanaman seperti kalus, daun, tunas dan biji, untuk dikembangkan dalam media buatan yang aseptik. Penambahan nutrisi zat pengatur tumbuh atonik merupakan zat pengatur tumbuh tanaman yang dapat meningkatkan produktivitas dan ketahanan tanaman terhadap serangan penyakit serta dapat merangsang pertumbuhan akar sehingga penyerapan air akan lebih efektif. Kultur jaringan dilakukan dalam wadah tertutup sehingga bagian tanaman bergenerasi menjadi tanaman lengkap yang memiliki akar, batang, dan daun.

Penggunaan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) mampu merangsang keadaan cekaman kekeringan dengan cara mengendalikan potensial air medium

tanam sehingga mengakibatkan penurunan tekanan hidrostatik dalam sel. Eksplan yang dapat tumbuh dalam medium yang mengandung *Poly Ethylene Glycol* PEG 6000 akan mampu bertahan dalam kondisi kekeringan di lingkungan alamnya (Saepudin dkk., 2017). Konsentrasi atonik dan PEG memberikan pengaruh pada pertumbuhan eksplan, hal ini dapat menambah informasi terkait efektivitas pada masing-masing konsentrasi yang telah digunakan.

1.4 Hipotesis

Terdapat konsentrasi atonik yang paling efektif untuk pertumbuhan kecambah kacang hijau (*Vigna radiata L.*) yang di tumbuhkan pada medium *Murashige dan Skoog* yang mengandung PEG 6000.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.)

Kacang hijau (*Vigna radiata* L.) merupakan salah satu komoditas tanaman kacang-kacangan yang umumnya ditanam di lahan kering. Kacang hijau memiliki potensi yang besar sebagai bahan baku produk olahan maupun campuran makanan dan memiliki keunggulan kompetitif dibandingkan jenis kacang yang lain. Kacang hijau di Indonesia menempati urutan ketiga terpenting sebagai tanaman pangan setelah kedelai dan kacang tanah. Pusat data dan sistem informasi pertanian menyatakan bahwa rata-rata penggunaan kacang hijau selama tahun 2011-2015 adalah 307,69 ton, sedangkan produksi kacang hijau hanya 268,25 ton dan impor kacang hijau mencapai 71,23 ton. Kacang hijau (*Vigna radiata* L.) merupakan kacang-kacangan yang banyak digemari masyarakat. Karena kacang hijau diketahui mengandung protein mencapai 20-25 persen. Kacang hijau banyak dimanfaatkan menjadi bahan baku pangan, pakan ternak dan kosmetik (Dostalova, 2017).

2.1.1 Sejarah Penyebaran Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.)

Tanaman kacang hijau (*Vigna Radiata* L.) merupakan tanaman berasal dari india, menyebar ke berbagai Negara Asia Tropis, termasuk ke Indonesia diawal abad ke-17. Kacang hijau dibawa masuk ke wilayah Indonesia oleh pedagang Cina dan Portugis. Pusat penyebaran kacang hijau pada mulanya di pulau jawa dan Bali tetapi pada tahun 1920-an mulai berkembang ke Sulawesi, Sumatera, Kalimantan, dan Indonesia bagian timur (Tanaem, 2021).

2.1.2. Klasifikasi dan Morfologi Kacang Hijau (*Vigna Radiata* L.)

Menurut Badan Pusat Statistik Riau, (2018) klasifikasi tanaman kacang hijau sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Rosales
Famili : Papilionaceae
Genus : *Vigna*
Spesies : *Vigna radiata* L

Sistem perakaran tanaman kacang hijau tersusun atas akar tunggang, akar serabut, dan akar lateral. Perakaran kacang hijau dapat membentuk bintil akar sehingga membantu dalam memenuhi kebutuhan nutrisi tanaman kacang hijau. Tanaman kacang hijau berbatang tegak dengan ketinggian sangat bervariasi, antara 30-60 cm, tergantung varietasnya. Cabangnya menyamping pada bagian utama, berbentuk bulat dan berbulu. Warna batang dan cabangnya ada yang hijau dan ada yang cokelat muda (Kurniawan, 2015).

Tanaman kacang hijau (*Vigna radiata* L.) termasuk suku polong-polongan (*Fabaceae*). Setiap daun terdiri dari tiga helaian dan letaknya berseling. Daun berbentuk lonjong dengan bagian ujung runcing. Tangkai daunnya cukup panjang, lebih panjang dari daunnya. Warna daunnya hijau muda sampai hijau tua (Kurniawan, 2015). Bunga kacang hijau berbentuk seperti kupu-kupu berwarna kuning pucat atau kehijauan tersusun dalam tandan, keluar pada cabang serta batang, dan dapat menyerbuk sendiri. Bunganya termasuk jenis hemaprodit atau berkelamin ganda. Proses penyerbukan terjadi pada malam hari sehingga pada pagi harinya bunga akan mekar dan pada sore harinya sudah layu (Rositawaty, 2009).

Polong kacang hijau menyebar dan menggantung berbentuk silindris dengan panjang antara 6-15 cm dan biasanya berbulu pendek. Sewaktu muda polong berwarna hijau dan dan setelah tua berwarna hitam atau coklat. Setiap polong berisi 10-15 biji, polong menjadi tua setelah 60-120 hari setelah tanam. Warna bijinya kebanyakan hijau kusam atau hijau mengilap, beberapa ada yang berwarna kuning, coklat dan hitam. Bagian-bagian biji terdiri dari kulit, keping biji, dan embrio yang terletak diantara keping biji (Rositawaty, 2009).



Gambar 1. Tanaman Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.)
(Astawan, 2009)

2.1.3. Kandungan Gizi dan Manfaat Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.)

Kacang hijau salah satu bahan makanan yang mengandung zat-zat yang diperlukan untuk pembentukan sel darah sehingga dapat mengatasi efek penurunan hemoglobin. Kacang hijau dapat berperan dalam pembentukan sel darah merah dan mencegah anemia karena kandungan fitokimia dalam kacang hijau sangat lengkap sehingga dapat membantu proses hematopoiesis. Kacang hijau juga memiliki kandungan vitamin dan mineral. Mineral seperti kalsium, fosfor, besi,

natrium dan kalium banyak terdapat pada kacang hijau (Astawan, 2009).

Kacang hijau memiliki kandungan protein yang cukup tinggi di dalamnya, terdapat sumber mineral penting antara lain kalsium dan fosfor yang bermanfaat untuk memperkuat tulang. Lemak dalam kacang hijau merupakan asam lemak tak jenuh sehingga baik untuk jantung. Selain itu aman dikonsumsi oleh mereka yang memiliki masalah dengan berat badan karena kandungan lemaknya rendah (Yartati, 2005).

Tabel 1. Kandungan gizi dalam 100 g kacang hijau:

Kandungan	Jumlah
Energi	345 kal
Protein	22,2 g
Lemak	1,2 g
Karbohidrat	62,9 g
Serat	4,1 g
Kalsium	125 mg
Fosfor	320 mg
Zat Besi	6,7 mg
Vitamin A	157 IU
Vitamin B1	0,64 mg
Vitamin C	6 mg
Air	10 g

Sumber : (Yartati, 2005).

Kacang hijau mengandung vitamin B1 yang berfungsi untuk mencegah penyakit beri-beri, membantu proses pertumbuhan, meningkatkan nafsu makan, memberikan saluran pencernaan, dan memaksimalkan kerja syaraf. Selain vitamin B1 kacang hijau juga mengandung vitamin B2 yang tugasnya membantu penyerapan protein

dalam tubuh. Dengan adanya vitamin B2 ini akan meningkatkan penyerapan protein sehingga menjadi lebih efisien (Yartati, 2005).

Menurut Wakhida (2016) kacang hijau memiliki sejumlah manfaat untuk pengobatan dan kesehatan tubuh. Adapun manfaat kacang hijau antara lain dapat memperlancar saluran pencernaan, memiliki efek detoksifikasi, menurunkan berat badan, menguatkan imunitas tubuh, berperan dalam pembentukan sel darah merah, dan mencegah anemia. Serta manfaat lain dari kacang hijau yaitu meningkatkan nafsu makan, memaksimalkan kerja saraf, serta sebagai sumber energi yang dapat memacu peningkatan sekresi ASI.



Gambar 2. Biji Kacang Hijau (*Anonymous*, 2015).

2.2. Syarat Tumbuh

Tanaman kacang hijau tumbuh dengan baik dan memberikan hasil panen yang tinggi jika ditanam di lingkungan yang cocok dengan hidupnya. Suhu udara yang cocok untuk pertumbuhan tanaman kacang hijau berkisar antara $25\text{ C}^{\circ} - 27\text{ C}^{\circ}$. Sifat fisik tanah yang sesuai untuk pertumbuhan tanaman kacang hijau adalah tanah gembur dengan struktur tanah lempung berdebu, dan kedalaman lapisan olah lebih 50 cm. Sifat fisik tanah yang demikian akan mudah mengikat air dan memiliki drainase yang baik, kelembaban pada tanaman kacang hijau 80% (Syamsiah, 2008). Tekstur tanah yang

cocok untuk tanaman kacang hijau adalah tanah yang banyak mengandung bahan organik, aerasi dan drainase yang baik. Struktur tanah gembur dengan tingkat keasaman pH 5,5 - 6,5. pH tanah yang lebih rendah dan lebih tinggi akan mempengaruhi pertumbuhan dan produksi (Khorniawati, 2014).

2.3. Medium *Murashige and Skoog*

Medium *Murashige and Skoog* merupakan media dengan kandungan nutrisi yang lengkap. Medium *Murashige and Skoog* mengandung unsur hara makro, hara mikro, vitamin, karbohidrat, asam amino, dan zat pengatur tumbuh. Selain medium *Murashige and Skoog* ada beberapa medium tumbuh lain, seperti medium *Vacint and Went*, *Knudson*, dan medium modifikasi (Kristianti dkk., 2016). Keberhasilan dalam kultur jaringan sangat ditentukan oleh medium yang digunakan. Jenis media dasar yang digunakan dalam teknik kultur jaringan, media *Murashige dan Skoog* adalah media yang mengandung jumlah hara organik yang layak untuk memenuhi kebutuhan banyak jenis sel tanaman dalam kultur (Utama, 2012).

2.4. Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan cara menumbuhkan kembangkan bagian tanaman baik berupa sel, jaringan atau pun organ yang dilakukan secara *in vitro*. Teknik ini digunakan karena memiliki beberapa kelebihan yaitu bibit yang dihasilkan lebih banyak, seragam dan bebas dari patogen (Soedarjo dkk., 2012). Teknik kultur jaringan telah banyak diaplikasikan dalam bioteknologi pertanian untuk mempelajari sitologi, fisiologi, genetika dan biokimia tanaman. Teknik ini didasari oleh teori sel Schwaan dan Schleiden mengenai sifat totipotensi sel, sehingga setiap organisme baru yang baru ditumbuhkan memiliki sifat yang sama dengan induknya (Yusnita, 2015).

Menciptakan kondisi yang aseptik pada teknik kuktur sangat penting sehingga sterilisasi menjadi langkah awal yang dilakukan untuk menghindari kontaminasi eksplan yang disebabkan oleh bakteri dan

organisme lainnya. Perlakuan juga harus dilakukan dalam kondisi aseptik di *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC). Wadah kultur yang telah berisi eksplan dan medium diletakkan diruang kultur yang bersih dan terkontrol kondisi lingkungannya agar terhindar dari kontaminasi mikroorganisme (Hapsari, 2017).

2.5. Larutan Atonik

Atonik merupakan golongan auksin yang berbentuk cair yang dapat mempercepat perkecambahan, mengaktifkan penyerapan unsur hara, merangsang pertumbuhan pada akar tumbuhan, mendorong pertumbuhan vegetatif, dan meningkatkan keluarnya kuncup. Menurut Zulkarnain (2009), atonik sebagai zat pengatur tumbuhan sangat diperlukan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan dan diferensiasi sel serta menjadi salah satu senyawa organik yang secara alami disintesis oleh tanaman dan mempengaruhi proses-proses fisiologis pada tumbuhan. Fungsi lain dari atonik adalah mempercepat pertumbuhan perakaran, tinggi pada tanaman, merangsang pembungaan, pertunasan, mencegah gugurnya bunga serta buah, memecahkan dormansi, merangsang perkembangan serbuk sari, dan memperpanjang tabung serbuk sari.

2.6. Pertumbuhan Eksplan (*Vigna radiata* L.)

Proses pertumbuhan kacang hijau diawali dari biji. Masuknya air ke dalam biji mengaktifkan enzim dan hormon sehingga metabolisme sel bekerja dan menyebabkan munculnya calon individu baru. Pertumbuhan kacang hijau diawali dengan munculnya radikula dan diikuti munculnya hipokotil di permukaan, selanjutnya kotiledon mulai terangkat, selanjutnya fase terbukanya kotiledon dan terbukanya daun pertama. Pada tahap ini, kacang hijau mengalami penambahan diameter atau penambahan ukuran pada bagian tumbuhan seperti batang (Mayasari, 2022).

2.7. Klorofil Tanaman (*Vigna radiata* L.)

Klorofil merupakan suatu pigmen yang dimiliki secara alami dan menjadi salah satu molekul yang memiliki peran serta fungsi penting bagi tanaman (Anggarwulan dkk., 2007). Adapun pengaruh yang timbul akibat buruknya suplai air terhadap proses fisiologis tanaman dapat menyebabkan menurunnya kadar klorofil daun. Menurunnya kandungan air daun, menyebabkan klorofil berwarna kuning hijau karena terjadinya proses penuaan sel yang kemudian memicu pengguguran daun (Djazuli, 2010). Faktor yang mempengaruhi adanya perbedaan kadar klorofil antara daun muda dan daun dewasa yaitu derajat perkembangan daun. Semakin muda umur daun maka akan semakin sedikit kadar klorofil, karena jaringan mesofil masih dalam tahap perkembangan (Taiz dkk., 2015). Banyaknya jaringan mesofil menyebabkan banyaknya klorofil yang terkandung di dalamnya, karena jaringan mesofil berdiferensiasi membentuk jaringan fotosintetik yang mengandung klorofil (Ningtyas dkk., 2011).

2.8 *Poly Ethylene Glycol* (PEG)

Poly Ethylene Glycol (PEG) adalah salah satu senyawa kimia yang larut dalam air. *Poly Ethylene Glycol* dengan bobot molekul lebih dari 4000 dapat menginduksi cekaman kekeringan pada tanaman dengan menurunkan potensial air pada larutan nutrisi tanpa bersifat racun. Besarnya penurunan pada air sangat bergantung pada konsentrasi dan berat molekul PEG. Hal ini yang menyebabkan PEG dapat digunakan untuk simulasi penurunan potensial air (Sutjahjo dkk., 2007). Bentuk dari PEG 6000 adalah padat, berwarna putih. PEG 6000 efektif digunakan karena dapat bekerja lebih baik pada tanaman dari pada PEG yang berat molekulnya lebih rendah. (Lawyer, 2010). Cekaman kekeringan adalah salah satu faktor *stress* lingkungan yang umum terjadi pada tanaman. Tanaman dapat merespon kekeringan secara morfologis dan anatomis (Porcel *et al.*, 2005). Cekaman merupakan kondisi lingkungan dimana tanaman tidak menerima asupan air yang cukup (Song, 2011).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Waktu dan tempat penelitian dilaksanakan pada bulan Maret - April 2023 di Ruang Kultur Jaringan Tumbuhan, Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat - alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya *autoclave*, Erlenmeyer, *Beaker glass*, aluminium foil, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, *Laminar Air Flow* (LAF), corong gelas, kompor, *tissue*, pinset, timbangan analitik, buku catat, pena, kamera handphone, gunting, *scalpel* (pisau), *magnetic stirrer*, botol kultur, penggaris, pH meter, kertas *Whatman* No. 1, kertas lakmus, pipet tetes, neraca analitik, karet gelang, kertas label, spektrofotometri, *plastic wrap*, oven, kompor, lemari kultur, panci, masker, sarung tangan, kuvet, nampan, pengaduk, plastik anti panas, cawan petri, mortar, dan pipet ukur.

Bahan - bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya akuades, gula pasir 30 g/L, alkohol 70% dan 96%, *Poly Ethylene Glycol* 6000 (PEG), agar-agar *wallet* 7 g, spritus, byclean, medium *Murashige dan Skoog* dan larutan atonik.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini disusun dengan pola dasar Rancangan Faktorial 3x3 dengan dua faktor yaitu A: Atonik dengan tiga taraf konsentrasi yaitu 0 ml/l (A0), 1 ml/l (A1), 2 ml/l (A2) untuk perendaman biji kacang hijau selama 60 menit dengan penambahan akuades pada masing - masing konsentrasi hingga 100 ml/l. Faktor B: PEG 6000 dengan tiga taraf konsentrasi yaitu 0% (B0), 70% (B1), 80% (B2) sebagai larutan stok dengan penambahan akuades pada masing - masing konsentrasi hingga 100 ml/l, kemudian PEG yang akan di masukkan kedalam larutan media agar pada tiap botol kultur yaitu 1 ml sehingga konsentrasi PEG yaitu 0% (B0), 3% (B1), 4% (B2) dalam medium 20 ml/l. Masing-masing konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan dan setiap ualangan terdiri dari 3 biji kacang hijau dalam setiap botol kultur. Notasi faktor taraf kombinasi perlakuan disajikan pada Tabel 2 dan tata letak percobaan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 2. Notasi Faktor Taraf Kombinasi Perlakuan

	Atonik	A0	A1	A2
PEG				
B0		A0B0	A1B0	A2B0
B1		A0B1	A1B1	A2B1
B2		A0B2	A1B2	A2B2

Keterangan:

A0B0 : Larutan Atonik 0 ml/l, PEG 0%

A0B1 : Larutan Atonik 0 ml/l, PEG 3%

A0B2 : Larutan Atonik 0 ml/l, PEG 4%

A1B0 : Larutan Atonik 1 ml/l, PEG 0%

A1B1 : Larutan Atonik 1 ml/l, PEG 3%

A1B2 : Larutan Atonik 1 ml/l, PEG 4%

A2B0 : Larutan Atonik 2 ml/l, PEG 0%

A2B1 : Larutan Atonik 2 ml/l, PEG 3%

A2B2 : Larutan Atonik 2 ml/l, PEG 4%

Tabel 3. Tata Letak Satuan Percobaan

A1B1U2	A2B2U1	A0B2U1
A3B1U1	A2B3U2	A1B1U3
A1B1U3	A3B2U2	A1B2U2
A3B3U2	A2B1U1	A2B1U3
A1B3U2	A2B3U3	A0B2U2
A3B1U3	A2B1U2	A1B2U1
A2B3U1	A3B2U3	A0B2U3
A2B2U3	A3B3U1	A2B1U1
A1B3U1	A3B3U3	A2B1U3

Keterangan :

A0-A2 : Konsentrasi Atonik 0% (A0), 1% (A1), 2% (A2)

B0-B2 : Konsentrasi PEG 0% (B0), 3% (B1), 4% (B2)

U1-U3 : Ulangan 1 - Ulangan 3

3.4 Bagan Alir Penelitian

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap yaitu perendaman biji kacang hijau dengan larutan atonik sesuai konsentrasi sebelum penanaman dalam medium, penanaman biji kacang hijau ke dalam medium *murashige and skoog* yang telah ditambahkan PEG sesuai konsentrasi, analisis karakter pada planlet kacang hijau resisten cekaman kekeringan meliputi analisis a). Kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total, b). persentase jumlah planlet yang hidup, c). tinggi tanaman, d). dan visualisasi planlet. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 3 minggu. Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti tercantum pada Gambar 3.

3.5. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa tahap yaitu:

1. Sterilisasi Alat Tanam

Pertama-tama dilakukan pencucian botol dengan menggunakan detergen dan dibilas dengan air bersih, kemudian ditiriskan pada keranjang. Alat dari bahan gelas ditutup aluminium foil, sedangkan alat-alat dari bahan logam dan cawan petri dibungkus dengan kertas HVS lalu disusun dengan rapi ke dalam autoklaf untuk sterilisasi. Setelah itu autoklaf tersebut ditutup rapat, kemudian tutup autoklaf serapat mungkin, kemudian dipanaskan di atas kompor dan tunggu hingga 60 menit dengan suhu 121°C. Botol dan alat - alat yang telah disterilkan kemudian dikeluarkan dan disimpan pada lemari steril (oven) agar bebas dari debu.

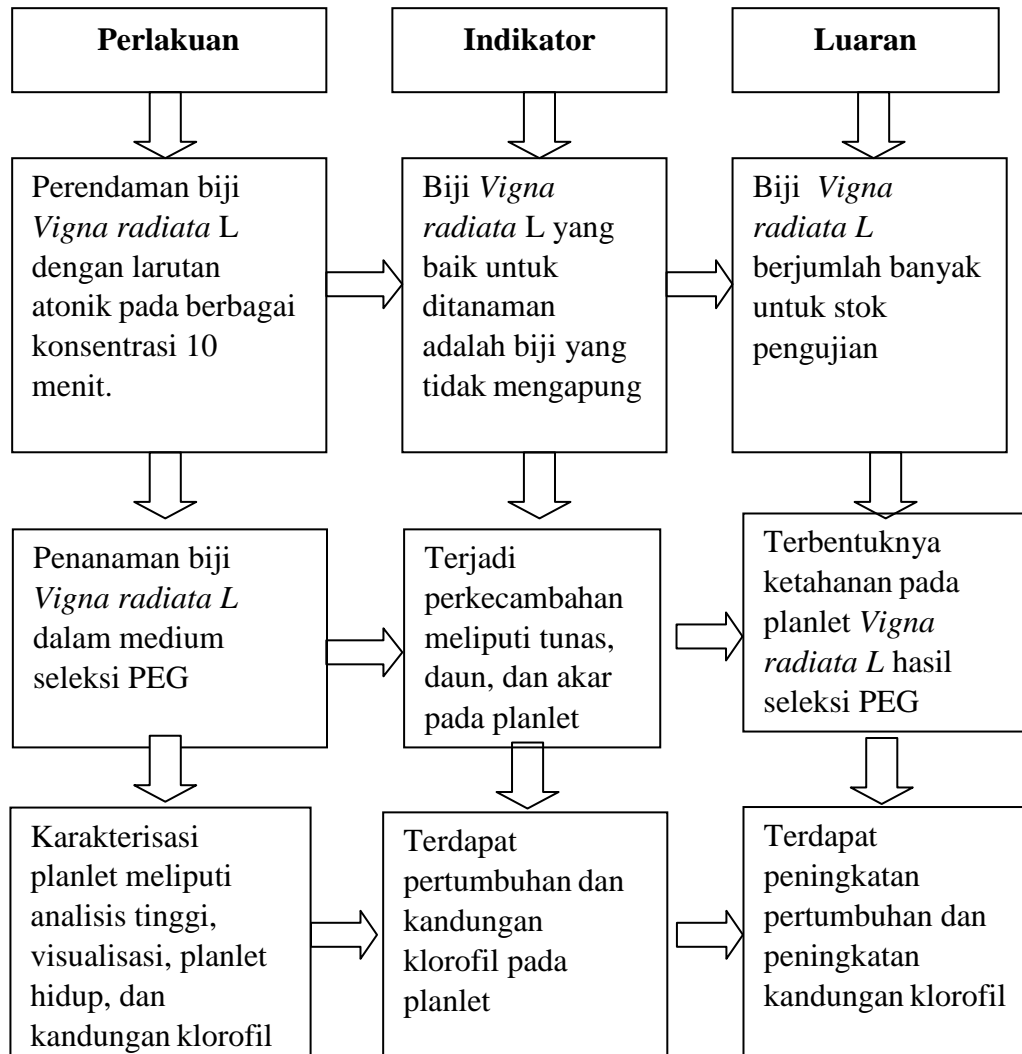
2. Sterilisasi Ruang Kerja

Sterilisasi pada ruang kerja dilakukan dalam ruang inkubasi menggunakan *Laminar Air Flow Cabinet*. Selama 30 menit sinar UV tetap dinyalakan, kemudian nyalakan blower dan lampu, setelah itu alkohol 96% disemprotkan pada permukaan LAFC dan dibersihkan menggunakan *tissue* steril.

3. Persiapan Medium Tanam

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Murashig dan Skoog*. Pembuatan medium tanam MS sebanyak 1 liter adalah dengan cara menimbang *Murashige dan Skoog* di atas timbangan analitik sebanyak 4,4 g, menimbang gula pasir 30 g, kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass 1 liter. Akuades ditambahkan sampai tanda 1 liter. Larutan medium dipanaskan untuk melarutkan agar-agar sambil diaduk sampai mendidih kemudian dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak

20 ml/botol (Nurchayani dkk., 2019). Sterilisasi medium dengan menggunakan autoklaf padasuhu 121°C selama 20 menit.



Gambar 3. Bagan Alir Penelitian

4. Persiapan Medium Seleksi

Medium *Murashige dan Skoog* yang telah steril ditambahkan PEG dengan konsentrasi 70% dan 80% . Sebelum digunakan, 70 gr PEG ditambahkan 30 ml akuades, dan 80 gr PEG ditambahkan 20 ml/l. akuades sehingga menjadi 100 ml/l. Setelah masing - masing PEG larut disaring menggunakan kertas *whatman* yang dilakukan di dalam Laminar Air Flow Cabinet, setelah disaring PEG kemudian dimasukkan ke dalam medium steril dan diambil menggunakan pipet ukur pada masing - masing konsentrasi PEG sebanyak 1 ml, sehingga konsentrasi PEG pada medium yaitu 3% dan 4%. Sebelum ditanami, medium dinkubasikan selama 3 hari pada suhu kamar (25°C) untuk memastikan bahwa PEG telah tersaring dengan baik. Apabila dalam waktu 3 hari tidak terjadi kontaminasi pada medium, maka medium dapat digunakan untuk penanaman.

5. Sterilisasi dan Induksi Biji dengan Larutan Atonik

Biji direndam untuk diseleksi dengan mengambil biji yang tenggelam dan memisahkan dengan biji yang mengapung diletakkan dalam cawan petri yang telah diberi tissue, kemudian biji disterilkan dalam tiga erlenmeyer dengan masing - masing larutan Bayclin 10%, kemudian dibilas dengan alkohol 70%, lalu akuades 100 ml. Benih yang sudah steril direndam dengan larutan atonik selama 60 menit. Larutan atonik terlebih dahulu dilarutkan dengan akuades pada tiga konsentrasi yaitu A: 0 ml/l, A: 1 ml/l, dan A: 2 ml/l. (Sahruramadan, 2023).

6. Penanaman Biji Dalam Seleksi PEG 6000

Biji yang telah direndam dengan larutan atonik dipindahkan ke dalam cawan petri selanjutnya biji ditanam pada medium seleksi. Penanaman biji kacang hijau dilakukan di dalam LAFC menggunakan pinset

kemudian botol di tutup dengan alumunium foil dan *plastic wrap*. Setiap botol kultur ditanami 3 biji, sehingga total benih yang ditanam sebanyak 108 dalam 36 botol kultur. Biji kacang hijau tersebut ditanam hingga menjadi planlet. Inkubasi kultur dilakukan pada ruangan dengan penyinaran ± 1000 lux, 24 jam/hari dan suhu $\pm 20^{\circ}\text{C}$.

3.6. Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada akhir minggu ke-2 dan dievaluasi untuk mengetahui konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk seleksi planlet kacang hijau secara *in vitro*. Setelah 1 minggu inkubasi, planlet yang masih hidup di dalam botol kemudian dikarakterisasi dengan parameter sabagai berikut.

a. Persentase Jumlah Planlet yang Hidup

Menurut Nurcahyani dkk., (2014) persentase jumlah planlet hidup pada tanaman kacang hijau dapat dihitung dengan menggunakan rumus yaitu:

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

b. Visualisasi Planlet

Meliputi warna planlet setelah diseleksi PEG 6000 dengan klasifikasi sebagai berikut: hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna coklat. Data visualisasi planlet disajikan dalam bentuk persentase, yang dihitung dengan rumus sebagai berikut.

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

(Nurcahyani dkk., 2014).

c. Tinggi Planlet Hidup

Menurut penelitian Suryanegara, (2010) tinggi tanaman diukur dari pangkal batang sampai titik tumbuh tanaman (ujung batang) diamati mulai pada umur 1 minggu (7 hari setelah tanam) serta dinyatakan dalam satuan centimeter (cm).

d. Analisis Kandungan Klorofil

Bahan untuk analisis kandungan klorofil yaitu menggunakan daun planet kacang hijau yang telah diseleksi dengan PEG 6000 serta dilakukan pengamatan menggunakan alat spektrofotometer. Adapun langkah kerjanya sebagai berikut:

Daun kacang hijau sebanyak 0,1 g yang telah ditimbang menggunakan neraca analitik kemudian digerus dengan mortar (*pestle*) dan ditambahkan 10 mL alkohol 95%. Setelah itu larutan disaring dengan kertas *Whatman* dan dimasukkan ke dalam *flakon* serta ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar (alkohol 95%) di ambil sebanyak 1 ml., kemudian dimasukkan dalam kuvet. Setelah itu dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang (λ) 644 nm dan 663 nm, dengan ulangan tiap sampel sebanyak tiga kali. Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Klorofil total} &= 1.07 \lambda_{663} + 0.094 \lambda_{644} \text{ mg/l} \\ \text{Klorofil a} &= 1.77 \lambda_{644} + 0.28 \lambda_{663} \text{ mg/l} \\ \text{Klorofil b} &= 0.79 \lambda_{663} + 1.076 \lambda_{644} \text{ mg/l} \end{aligned}$$

(Nintya, 2009).

3.7. Analisis Data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet kacang hijau selama seleksi dengan PEG 6000 berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan di dukung foto.

Sedangkan untuk mengetahui pengaruh atonik dan PEG secara kuantitatif, data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf nyata 5%. Apabila uji tersebut dinyatakan tidak nyata maka ditentukan dengan uji lanjutan yaitu uji BNT pada taraf nyata 5%.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Konsentrasi larutan atonik 1 ml/l dan 2 ml/l belum mampu meningkatkan pertumbuhan planlet kacang hijau yang tercekam kekeringan secara *in vitro*.
2. Terdapat interaksi antara larutan atonik dengan PEG 6000 terhadap pertumbuhan dan kandungan klorofil planlet kacang hijau (*Vigna radiata L.*). Pemberian atonik 2 ml/l mampu meningkatkan tinggi planlet tanaman dan klorofil pada kondisi tidak tercekam kekeringan. Namun, tidak pada kondisi tercekam PEG baik 3% maupun 4%.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan untuk menganalisis parameter pengamatan lainnya pada planlet seperti parameter panjang akar, berat basah, berat kering serta menggunakan larutan atonik dengan konsentrasi yang lebih tinggi dari konsentrasi pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggarwulan, E. dan Solichatun. 2007. *Kajian Klorofil dan Karotenoit Plantago Major L. dan Phaseolus vulgaris L.* Biodiversitas. 8 (4) : 27 – 28.
- Anonymous. 2015. <http://bibitbunga.com/blog/cara-menanam-kacang-hijau-hidroponik>. Diakses pada tanggal 21 januari 2023. Pukul 21.40.
- Astawan, M. 2009. *Sehat dengan hidangan kacang dan biji-bijian.* Penebar Swadaya. Depok. 33 - 34.
- Azizah. 2010. *Respons Kalus Kedelai (Glicine max L. Merr) pada Media B5 dengan Penambahan PEG (Poliethylena Glicol) 6000 sebagai Simulasi Cekaman Kekeringan.* Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN. Malang. 45 - 51.
- Banyo, Y.E., Song, N., Siahaan, P dan Tangapo, A.M. 2013. Konsentrasi Klorofil Daun Padi Pada Saat Kekurangan Air yang Diinduksi dengan Polyethylene Glycol. *Jurnal Ilmiah Sains* 13 (1) : 4 - 8.
- BPS Provinsi Riau. 2008. *Kerjasama Badan Perencanaan Pembangunan Provinsi Riau dengan Badan Pusat Statistik (BPS).* Provinsi Riau. Pekanbaru. 22 -24.
- Caponetti J.D., Gray D.J., dan Trigiano R.N. 2005. *History of Plant Tissue and Cell Culture. Plant Development and Biotechnologi.* Boca Raton. London. 40 - 46.
- Djazuli, M. 2010. *Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Pertumbuhan dan Beberapa Karakter Morfofisiologis Tanaman Nilam.* Buletin Littro. 34 - 37.
- Dostalova, J.P.K. 2017. *Kacang Hijau Sebagai Bahan Pokok Makanan dan Campuran Olahan.* Sience. Jakarta. 56 - 58.
- Handayani, T., Kusmana., dan Kurinawan, H. 2018. Respon dan Seleksi Tanaman Kentang Terhadap Kekeringan. *Jurnal Biologi.* Universitas Andalas. 51 -51.

- Hapsari, B. W., Martin, A. F., dan Ermayanti, M. 2017. *Perlakuan Polyethilene Glycol Secara In Vitro Terhadap Pertumbuhan Tunas Mutan Taka Untuk Seleksi Toleran Kekeringan*. 62 - 71.
- Hidayanto, M., Nurjanah. S., dan Yossita, F. 2003. Pengaruh Atonik Pada Sukun (*Artocarpus communis, F*) terhadap Pertumbuhan Akar. *Jurnal Pengkajiandan Pengembangan Teknologi Pertanian* 6 (2): 54 - 60.
- Homayoun, H., Daliri, M.S., dan Mehrabi, P., 2011. Effect of Drough Stress on Leaf Chlorophyll in Corn Cultivars (*Zea mays*). *Journal of Scientific Research*. 9 (3): 41.
- Khorniawati, M. 2014. Preferensi Konsumen Indonesia Terhadap Produk Kacang Hijau Pertanian Organik Lokal. *Jurnal Study Manajemen*. 8 (2): 71 - 82.
- Kisey, B.H., Hermawati, C., dan Himawan, B.A., 2010. Pengaruh Komposisi Media Tanam dan ZPT Atonik Terhadap Pertumbuhan Sawi. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*. 34 - 40.
- Kristianti, A., Kamsinah., dan Dwiati, M. 2016. Pertumbuhan stek krisan (*Crysanthemum morfolium L*) pada berbagai media kultur in vitro. *Jurnal Biosfera*. 2.(2).
- Kurniawan. 2015. *Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Kacang Hijau*. Undip. Semarang. 67 - 74
- Lawyer, D. 2010. Absorption of PEG by plant ether effect on plant growth. New physiol. Metabolit Sekunder Kalus Catang lamell Mart) dengan Penambahan PEG Menginduksi Cekaman Kekeringan. *Jurnal Biologi*. Universitas Andalas 2 (1): 50.
- Lestari. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh Dalam Perbanyakkan Tanaman Melalui Kultur Jaringan. *Jurnal Agrobiogen*. 7 (1).
- Mayasari, A. 2022. <https://adjar.grid.id/amp/543222149/tahap-pertumbuhan-dan-perkembangan-tumbuhan-kacang-hijau?page=3>. Diakses 22 Desember 2022. Pukul 02.15 WIB.
- Ndrestian dan Hatimah. 2015. Daya Simpan Susu Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus L.*) Dengan Persentase Penambahan Sari Jahe Merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum). *Indonesian Journal of Human Nutrition*. 2 (1) : 38 - 47.
- Nigtyas, P. Z. E., Prihastanti., dan Septiningsih. E. 2011. *Pengaruh Kombinasi Urutan Daun Stephania hernandifolia walp. dan penambahan volume air terhadap kualitas dan sineresis Cincau Selama Penyimpanan*. Universitas Diponegoro. Semarang.

- Nintya. S. 2009. *Eksplorasi Kandungan Klorofil Pada Beberapa Sayuran Hijau Sebagai Alternatif Bahan Dasar Food Supplement*. Struktur dan Fungsi Tumbuhan. Bandung. 28 - 30.
- Nio Song, A., dan Banyo. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air Pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*. 11 (2) : 63 - 67.
- Nurchayani, E., Hadisutrisno, B. I. Q., Sumardi., dan Suharyanto, E. 2014. *Pengendalian Penyakit Pada Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan*. Perhimpunan Fitopatologi Indonesia. Fakultas Pertanian UGM. 27 - 42.
- Nurchayani, E., Sumardi., Qudus, HI., Palupi, A., dan Sholekhah. 2019. Analysis of Chlorophyll (*Phalaenopsis amabilis L.*) Results of the Resistance to *Fusarium oxysporum* and Drought Strees. *Jurnal of Agriculture and Veterinary Science*. 12 (11) : 42 - 46.
- Nurchayani, E., Stellawati, I., Zulkifli., dan Suratman. 2022. Pengaruh Cekaman Garam Secara *In Vitro* Pada Kadar Klorofil dan Karakter Ekspresi Planlet Sawi Caisim. *Analytical and Environmental Chemistry*. 7 (1) : 1 - 12.
- Osmolovskaya, N., Shumilina, J., Kim, A., Didio, A., Grishina, T., Bilova, T., dan Wessjohann, L. A. 2018. Methodology of Drought Stress Research: Experimental Setup and Physiological Characterization. *Journal of Molecular Sciences*. 2 (1): 51 - 59.
- Ozel, C.A dan Arslan. 2006. Efficient micropropagation of English Shrub Rose Heritage Under *In Vitro* Conditions. *International Journal of Agriculture and Biologi*. 8 (5) : 26-29.
- Porcel, R., Aazco, R., dan Ruiz-Lozano, M. 2005. Exam of The Role of Genes Encoding for Dehydrin Proteins (LEA D-11) During Drought Stress in Arbuscular Myconchial Glycine max and Lactuca sativa Plants. *Journal of Experimental Botany*. 2 (1): 40.
- Rahayu. 2005. *Polietilene Glikol (PEG) Dalam Media In vitro menyebabkan Kondisi Cekaman Yang menghambat Tunas Kacang Tanah (Arachis hypogaea L)*. Berk Penel. Hayati: 11: 39 - 48.
- Rahayu, E., Guhardja, E., dan Ilyas, S. 2011. PEG Dalam Media *In Vitro* Menyebabkan Kondisi Stress yang Menghambat Tunas Kacang Tanah. *Jurnal Ilmiah Sains*. 4 (1).
- Rahayu, E.S., Edi, G., Satriyas, dan Sudarsono. 2012. *Poly Ethylene Glycol (PEG) Dalam Media In Vitro Menyebabkan Kondisi Cekaman Kekeringan yang Menghambat Tunas Kacang Tanah (Arachis hypogaea*

- L.) Berk Panel Hayati. 39 - 48.
- Romadloni, A., dan Wicaksono, K.P. 2018. Pengaruh Beberapa Level Salinitas terhadap Perkecambahan Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Varietas Vima 1. *Jurnal Produksi Tanaman*. 6 (8) : 16.
- Rositawaty. 2009. *Respon pertumbuhan dan produksi kacang hijau terhadap pemberian pupuk hayati dan pupuk anorganik terhadap kacang hijau*. Fakultas pertanian. Unsri. 22-25.
- Saepudin, A., Khumaida, N., Sopandie, D., dan Ardie, S. W. 2017. *In Vitro Selection of Four Soybean Genotypes using PEG for Drought Tolerance Seleksi In Vitro Empat Genotipe Kedelai menggunakan PEG untuk Toleransi Kekeringan*. Jakarta. 14 - 22.
- Sahruramadan. A. R. 2023. *Pengaruh Konsentrasi Larutan Atonik Dan Lama Perendaman Terhadap Perkecambahan Jeruk*. UM. Malang. 40 - 43.
- Santoso, U., dan Nursandi, F. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang. 30 - 36.
- Sarasmi, D. I., Zulkifli, dan Tripeni, T. H. 2015. *Uji Ketahanan pada Kecambah Padi Gogo (*Oryza sativa* L.) terhadap Cekaman Kekeringan yang Diinduksi oleh Polietilen Glikol 6000*. Prosiding Seminar Nasional Swasembada Pangan POLINELA. 16-24
- Savitri, ES. 2010. *Pengujian In Vitro Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine Max* L. Merr) Toleran Kekeringan Menggunakan Polyethylene Glykol (PEG) 6000 Pada Media Padat dan Cair*. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang. 9 - 13.
- Sharaf, E. M. A., dan Weathers, P. 2006. *Movement dan Containment of Microbial Contamination in the Nutrient Mist Bioreactor*. *In Vitro*. 53 -55.
- Simsek, O. 2018. *Effect of Drought Stress in in Vitro dan Drought-Related Gene Expression in Carrizo*. Fresenius Environmental.
- Sirait, B. A., dan Charloq, R. 2017. *In Vitro Study of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Tolerant to the Drought Stress*. Bandung. 18.
- Soedarjo, M., Shintiavira, H., Supriadi., dan Nasihin, Y. 2012. *Peluang Bisnis Inovasi Krisan Badan Litbang Pertanian*. Agro inovasi. Jakarta Selatan.
- Song, N. 2011. Biomassa dan Kandungan Klorofil Total Daun Jahe (*Zingiber officinale* L) yang Mengalami Cekaman Kekeringan. *Jurnal Ilmiah Sains*. 11 (1): 4.

- Sumiati, E. 2013. *Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Hasil Curd Broccoli (Brassica oleraceae) Kultivar Green*. Malang. 45 -50.
- Suparwoto., Waluyo., dan Jumakir. 2006. Pengaruh Atonik Terhadap Perkecambahan Biji Duku. *Jurnal Agronomi*. 9 (2):7 - 9.
- Suryanegara. 2010. *Pengaruh Pengaturan Jarak Tanam Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Kacang Panjang*. Jurusan Pendidikan Biologi. Universitas Pendidikan Ganesha Singaraja
- Sutjahjo, S. H., Abdul, K., dan Ika, M. 2007. *Efektivitas polietilena glikol sebagai bahan penyeleksi kalus nilam yang diradiasi sinar gamma untuk toleran terhadap cekaman kekeringan*. Ilmu Pertanian. Bandung. 48 - 57.
- Syamsiyah, S. 2008. *Respon Tanaman Padi Gogo terhadap Stres Air dan Inokulasi Mikoriza*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 42 - 43.
- Taiz, L., dan Zeiger, E. 2015. *Plant Physiology*. Sains. Jambi. 66 - 73.
- Tanaem, S., Pasangka, B., dan Tarigon, J. 2021. Pengembangan Kacang Hijau Lokal Asal Amanatun Selatan Yang Dapat Berbuah Dua Kali Dengan Metode Irradiasi Multigamma Standar. *Jurnal Fisika Sains dan Aplikasinya*. ISSN. 45-52.
- Toruan, M., Wijana, N., Guharja, G., Aswidinnoor, H., Yahya., Sudirman dan Subroto. 2010. *Respons tanaman kelapa sawit (Elaeis guineensis Jacq) terhadap cekaman kekeringan*. Menara Perkebunan. Bogor. 29 - 45.
- Utama, G. 2012. *Subkultur pisang raja bagus pada berbagai konsentrasi sukrosa dan Benzyl Amino Purine*. Universitas Pembangunan Nasional Veteran. Yogyakarta. 45 - 57.
- Wakhida, S. W. 2016. Pengaruh Konsumsi Kacang Hijau Dengan Produksi ASI Pada Ibu Menyusui Dengan Usia Bayi 0 - 6 Bulan. *Jurnal Kebidanan dan Kesehatan*. 1 (1).
- Yartati. 2005. *Manfaat kacang hijau bagi kesehatan*. Badan Penerbit Universitas Negeri. Makassar.
- Yunita, R. 2009. Pemberian PEG Seleksi Tanaman Tomat Toleran Cekaman Kekeringan. *Jurnal Litbang Pertanian* 28 (4):14
- Yusnita. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman Sebagai Teknik Penting Bioteknologi Untuk Menunjang Pembangunan Pertanian*. Aura Publishing. Jakarta. 57 - 60.
- Zulkarnain, H. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman*

Budidaya. Bumi Aksara. Jambi.