

**KARAKTERISASI RESPON FISIOLOGIS DAN IDENTIFIKASI
POLIMORFISME DNA BERBASIS RAPD PADA ANGGREK BULAN
[*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] TERHADAP CEKAMAN
KEKERINGAN**

(Tesis)

**Oleh
Azahra Putri Najla
2427021008**



**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2026

ABSTRAK

**KARAKTERISASI RESPON FISILOGIS DAN IDENTIFIKASI
POLIMORFISME DNA BERBASIS RAPD PADA ANGGREK BULAN
[*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] TERHADAP CEKAMAN
KEKERINGAN**

Oleh

Azahra Putri Najla

Cekaman kekeringan merupakan salah satu faktor pembatas utama dalam budidaya anggrek yang memengaruhi stabilitas fisiologis dan ekspresi genetik tanaman. Identifikasi respons fisiologis dan variasi genetik yang terkait dengan toleransi kekeringan menjadi penting dalam upaya pengembangan genotype yang adaptif. Penelitian ini bertujuan untuk (1) menentukan batas toleransi cekaman kekeringan melalui perlakuan Polyethylene Glycol (PEG) 6000 secara *in vivo*, (2) menganalisis respons fisiologis tanaman meliputi kandungan gula reduksi, klorofil a, klorofil b, klorofil total, serta Indeks Toleransi Cekaman (ITC), dan (3) mengidentifikasi polimorfisme DNA berbasis *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) pada tanaman yang diberi perlakuan cekaman dibandingkan dengan kontrol. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap satu faktor dengan lima taraf konsentrasi PEG 6000 (0%, 10%, 20%, 30%, dan 40%) dan Data kuantitatif dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji BNJ taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi PEG 6000 sebesar 40% merupakan batas toleransi cekaman kekeringan yang masih mampu dipertahankan oleh tanaman. Peningkatan konsentrasi PEG menyebabkan penurunan signifikan kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total, serta peningkatan kandungan gula reduksi sebagai respons adaptif terhadap cekaman osmotik. Nilai ITC pada konsentrasi 40% mengindikasikan kategori tanaman toleran terhadap kekeringan. Analisis RAPD menunjukkan adanya pita DNA spesifik pada tanaman tercekam, yaitu primer OPB-14 (± 500 bp) dan primer OPB-20 (± 390 bp dan ± 500 bp), yang berpotensi sebagai penanda molekular terkait toleransi kekeringan. Penelitian ini menunjukkan adanya keterkaitan antara respons fisiologis dan variasi genetik pada *Phalaenopsis amabilis* dalam menghadapi cekaman kekeringan, yang dapat menjadi dasar dalam program seleksi dan pemuliaan anggrek toleran kekeringan.

Kata kunci: *Phalaenopsis amabilis*, cekaman kekeringan, PEG 6000, RAPD, polimorfisme DNA, indeks toleransi cekaman.

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF PHYSIOLOGICAL RESPONSES AND IDENTIFICATION OF RAPD-BASED DNA POLYMORPHISM IN MOON ORCHID [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] UNDER DROUGHT STRESS

Oleh

Azahra Putri Najla

Drought stress is one of the major limiting factors in orchid cultivation, affecting physiological stability and plant genetic expression. The identification of physiological responses and genetic variation associated with drought tolerance is essential for the development of adaptive genotypes. This study aimed to (1) determine the tolerance threshold to drought stress through *in vivo* treatment with Polyethylene Glycol (PEG) 6000, (2) analyze plant physiological responses including reducing sugar content, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, and Stress Tolerance Index (STI), and (3) identify DNA polymorphisms based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) in drought-treated plants compared with the control. The experiment was arranged in a Completely Randomized Design (CRD) with a single factor consisting of five PEG 6000 concentrations (0%, 10%, 20%, 30%, and 40%), each with five replications. Quantitative data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) followed by Honestly Significant Difference (HSD) test at the 5% significance level. The results showed that a PEG 6000 concentration of 40% represented the maximum drought tolerance threshold that could still be maintained by the plants. Increasing PEG concentration significantly decreased chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll contents, while increasing reducing sugar content as an adaptive response to osmotic stress. The STI value at 40% PEG indicated that the plants were categorized as drought tolerant. RAPD analysis revealed the presence of specific DNA bands in drought-treated plants, namely primer OPB-14 (± 500 bp) and primer OPB-20 (± 390 bp and ± 500 bp), which potentially serve as molecular markers associated with drought tolerance. This study demonstrates a linkage between physiological responses and genetic variation in *Phalaenopsis amabilis* under drought stress conditions, providing a scientific basis for selection and breeding programs aimed at developing drought-tolerant orchids.

Kata kunci: *Phalaenopsis amabilis*, drought stress, PEG 6000, RAPD, DNA polymorphism, stress tolerance index.

**KARAKTERISASI RESPON FISIOLOGIS DAN IDENTIFIKASI
POLIMORFISME DNA BERBASIS RAPD PADA ANGGREK BULAN
[*Phalaenopsis Amabilis* (L.) Blume] TERHADAP CEKAMAN
KEKERINGAN**

Oleh

AZAHRA PUTRI NAJLA

Tesis

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
MAGISTER SAINS**

Pada

**Program Studi Magister Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG**

2026

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Tesis : **KARAKTERISASI RESPON FISIOLOGIS DAN IDENTIFIKASI POLIMORFISME DNA BERBASIS RAPD PADA ANGGREK BULAN [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN**

Nama Mahasiswa : **Azahra Putri Najfa**

NPM : **2427021008**

Jurusan/Program Studi : **Biologi/Pasca Sarjana**

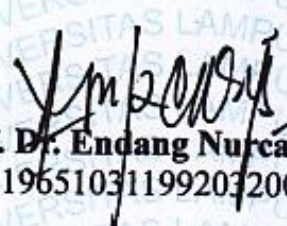
Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

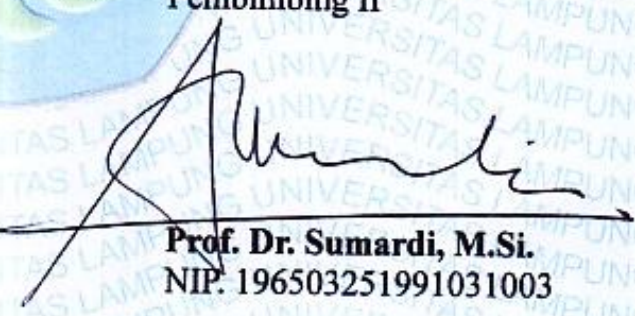
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

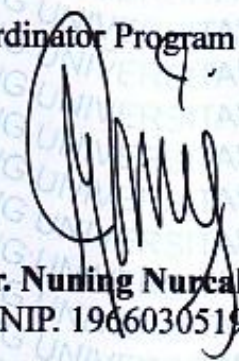
Pembimbing I

Pembimbing II


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


Prof. Dr. Sumardi, M.Si.
NIP. 196503251991031003

2. Koordinator Program Studi Magister Biologi


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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

Sekretaris : **Prof. Dr. Sumardi, M.Si.**

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

Bukan Pembimbing II : **Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, SU.**

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

3. Direktur Program Pascasarjana

Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si.
NIP. 196403261989021001

Tanggal Lulus Ujian Tesis: **2 Februari 2026**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Azahra Putri Najla
NPM : 2427021008
Jurusan : Magister Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam tesis saya dengan judul **“KARAKTERISASI RESPONS FISIOLOGIS DAN IDENTIFIKASI POLIMORFISME DNA BERBASIS RAPD PADA ANGGREK BULAN [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN”** adalah hasil karya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Tesis ini saya susun dengan mengikuti pedoman dan norma akademik yang berlaku.

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

Bandar Lampung, 2 Februari 2026
Yang menyatakan,


2193FANX256446107

Azahra Putri Najla
2427021008

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 28 Desember 2001, sebagai anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Agus Nursyamsi dan Ibu Supri Hastuti. Penulis menempuh pendidikan pertamanya di Taman Kanak-Kanak (TK) Aisyiyah Bustanul Athfal hingga tahun 2008, kemudian Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar (SD) pada tahun 2008 hingga lulus pada tahun 2014 di SDN 7 Gadingrejo Pringsewu, selanjutnya Penulis melanjutkan Sekolah Menengah Pertama di SMP N 1 Gadingrejo dan lulus pada tahun 2017. Penulis kemudian menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA N 1 Gadingrejo dan lulus pada tahun 2019. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan sarjana di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN), dan meraih gelar Sarjana Sains (S.Si.) pada tahun 2023. Pada tahun 2024, penulis tercatat sebagai Mahasiswa Program Studi Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Selain itu, penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Biosains Tumbuhan.

MOTTO

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

(QS. Al-Insyirah: 5-6).

“Barang siapa menempuh jalan untuk mencari ilmu, maka Allah akan memudahkan baginya jalan menuju Syurga.”

(HR. Muslim).

“Apa yang melewatkanmu tidak akan pernah menjadi takdirku, dan apa yang ditakdirkan untukku tidak akan pernah melewatkanmu”

(Umar bin Khatab).

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan mengucapkan rasa syukur kehadiran Allah SWT juga shalawat yang senantiasa pada Rasulullah Muhammad SAW.

Saya persembahkan karya kecil ini kepada Orang Tua dan Keluarga

Yang telah merawat, memberikan kasih sayang, motivasi, dan senantiasa mendoakan setiap langkah yang saya jalani.

Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Biologi Universitas Lampung

Yang telah membimbing, mengarahkan, dan memberikan segala ilmunya dengan ikhlas kepada saya hingga gelar sarjana ini dapat saya raih.

Teman-Teman Magister Biologi Angkatan 2024

Yang telah berjuang sejak awal berada di bangku perkuliahan dan selalu memberikan semangat disetiap ada kesempatan hingga saat ini.

Almamater Tercinta, Universitas Lampung.

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala berkah, rahmat, dan hidayah-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Magister Sains pada Program Studi Magister Sains, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung dengan tesis yang berjudul **“Karakterisasi Respons Fisiologis dan Identifikasi Polimorfisme DNA Berbasis RAPD pada Anggrek Bulan [*Phalaenopsis Amabilis* (L.) Blume] terhadap Cekaman Kekeringan”**. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Ibu Prof. Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., dengan judul “Pengembangan Varietas Unggul Anggrek Bulan *Phalaenopsis amabilis* Tahan Kekeringan melalui Pendekatan Bioteknologi dan Deteksi Molekular”, yang didanai oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM), Universitas Lampung, berdasarkan Surat Perjanjian (Kontrak) Pekerjaan Pelaksanaan Kegiatan Penelitian Pascasarjana Nomor: 694/UN26.21/PN/2025 Tanggal 02 Juni 2025.

Penulisan tesis ini tidak terlepas dari perhatian, bimbingan, masukan, arahan, nasehat, serta motivasi yang tiada henti selama dalam penelitian, penulisan, serta dalam proses menyelesaikan studi. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., selaku pembimbing I atas waktu dan tenaga yang telah sabar memberikan ilmu, bimbingan, nasihat, arahan, saran serta masukan kepada penulis dalam proses perkuliahan, penelitian, dan penyusunan tesis ini.
2. Bapak Prof. Dr. Sumardi, M.Si., selaku pembimbing II yang telah membimbing, memberi masukan, nasehat, kritik dan saran serta membantu penulis menyelesaikan tesis ini.

3. Bapak Prof. Dr. Bambang Irawan, M.Sc., selaku pembahas I yang telah memberikan saran, kritik, nasehat dan koreksi selama penulis menyelesaikan tesis ini.
4. Bapak Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, SU., selaku pembahas II yang telah banyak memberikan masukan, arahan, nasehat, dan waktu terhadap penulis dalam penyelesaian tesis ini.
5. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung.
6. Bapak Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si., selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak Dr. Jani Master, M. Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
9. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M. Sc., selaku Ketua Prodi Program Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
10. Bapak dan Ibu Dosen serta segenap Karyawan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang tidak bisa disebutkan satu-persatu atas ilmu, bimbingan, dan bantuan kepada penulis.
11. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Agus Nursyamsi dan Ibu Suprihastuti, serta Adikku, Muhammad Akmal Fadhilah sebagai penyemangat terbaik dalam hidupku, terima kasih atas do'a, dukungan, dan nasehat kepada penulis.
12. Teman-teman seperjuangan Magister Biologi 2024, terima kasih atas kebersamaan dan persaudaraannya.
13. Serta almamater Universitas Lampung yang tercinta.

Akhir kata, penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi seluruh pihak baik penulis maupun pembaca.

Bandar Lampung, 2 Februari 2026
Penulis,

Azahra Putri Najla

DAFTAR ISI

| | |
|---|------|
| SAMPUL DEPAN | i |
| ABSTRAK | ii |
| ABSTRACT | iii |
| SAMPUL DALAM | iv |
| LEMBAR PERSETUJUAN | v |
| MENGESAHKAN | vi |
| SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TESIS | vii |
| RIWAYAT HIDUP | viii |
| MOTTO | ix |
| PERSEMBAHAN | x |
| SANWACANA | xi |
| DAFTAR ISI | xiii |
| DAFTAR TABEL | xv |
| | |
| I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Tujuan Penelitian..... | 4 |
| 1.3. Kerangka Pikir | 5 |
| 1.4. Hipotesis Penelitian..... | 6 |
| | |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | 7 |
| 2.1. Anggrek Bulan [<i>Phalaenopsis amabilis</i> (L.) Blume] | 7 |
| 2.2. Cekaman Kekeringan | 9 |
| 2.3. Polyethylene Glycol (PEG)..... | 10 |
| 2.4. Biosintesis Klorofil | 11 |
| 2.5. Gula Reduksi..... | 13 |
| 2.6. Deteksi Mutan dengan PCR..... | 14 |
| | |
| III. METODE PENELITIAN | 17 |
| 3.1. Waktu dan Tempat..... | 17 |
| 3.2. Alat dan Bahan..... | 17 |
| 3.3. Rancangan Penelitian | 18 |
| 3.4. Pelaksanaan Penelitian..... | 18 |

| | |
|--|-----------|
| 3.4.1. Persiapan Medium Tanam | 20 |
| 3.4.2. Penanaman Anggrek Bulan [<i>Phalaenopsis amabilis</i> (L.) Blume]. | 20 |
| 3.4.3. Pembuatan Larutan PEG 6000 | 20 |
| 3.4.4. Pengaplikasian PEG 6000 dan Pengamatan | 20 |
| 3.4.5. Karakterisasi Anggrek Bulan [<i>Phalaenopsis amabilis</i> (L.) Blume] | 21 |
| 3.5. Analisis Data | 26 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 27 |
| 4.1. Kandungan Klorofil Anggrek Bulan | 27 |
| 4.2. Indeks Toleransi Cekaman (ITC) | 32 |
| 4.3. Kandungan Gula Reduksi Anggrek Bulan | 34 |
| 4.4. Analisis Pola DNA Tanaman Anggrek Bulan | 38 |
| V. KESIMPULAN DAN SARAN | 44 |
| 5.1. Kesimpulan | 44 |
| 5.2. Saran..... | 44 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 45 |
| LAMPIRAN..... | 51 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| 1. Tata Letak Satuan Percobaan | 18 |
| 2. Primer RAPD untuk <i>Phalaenopsis amabilis</i> | 24 |
| 3. Kondisi Reaksi PCR – RAPD..... | 25 |
| 4. Rata-rata kandungan klorofil a tanaman anggrek bulan pada berbagai konsentrasi PEG 6000 | 28 |
| 5. Rata-rata kandungan klorofil b anggrek bulan pada berbagai konsentrasi PEG 6000 | 29 |
| 6. Rata-rata kandungan klorofil total anggrek bulan pada berbagai konsentrasi PEG 6000..... | 30 |
| 7. Indeks toleransi cekaman tanaman anggrek bulan pada berbagai konsentrasi | 32 |
| 8. Perbandingan konsentrasi gula reduksi dan absrobansi | 34 |
| 9. Kandungan Gula Reduksi Tanaman Anggrek Bulan pada Beragai Konsentrasi..... | 36 |
| 10. Jumlah Pita Hasil Amplifikasi PCR-RAPD Pada Tanaman Anggrek Bulan yang berumur 3 bulan dan diberi perlakuan PEG 6000 | 39 |
| 11. Pola Pita DNA dengan Primer OPB_14 dan OPB_20 Tanaman Anggrek Bulan | 39 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| 1. Tanaman <i>Phalaenopsis amabilis</i> (L.) Bl. (Djufri dkk, 2015)..... | 8 |
| 2. Struktur Kimia Polyethylene Glycol (Rowe, 2009). | 11 |
| 3. Bagan Alir Penelitian..... | 19 |
| 4. Grafik Kurva Standar Gula Reduksi | 35 |
| 5. Pola Pita DNA Tanaman Anggrek Bulan dengan primer OPB_14..... | 41 |
| 6. Pola Pita DNA Tanaman Anggrek Bulan dengan primer OPB_20..... | 42 |
| 7. Perubahan DNA pada Tanaman Akibar ROS (a)..... | 75 |
| 8. Perubahan DNA pada Tanaman Akibat ROS (b) | 75 |
| 9. Tanaman Anggrek Bulan yang Akan Diberi PEG 6000 Berbagai Konsentrasi | 76 |
| 10. Tanaman Anggrek Bulan Setelah Diberi PEG 6000 Berbagai Konsentrasi | 76 |
| 11. Tanaman Anggrek Bulan dengan Penambahan PEG 6000 Pada Konsentrasi 0% Pada Awal Pengamatan | 76 |
| 12. Tanaman Anggrek Bulan dengan Penambahan PEG 6000 Pada Konsentrasi 10% Pada Awal Pengamatan..... | 77 |
| 13. Tanaman Anggrek Bulan dengan Penambahan PEG 6000 Pada Konsentrasi 20% Pada Awal Pengamatan..... | 77 |
| 14. Tanaman Anggrek Bulan dengan Penambahan PEG 6000 Pada Konsentrasi 30% Pada Awal Pengamatan..... | 77 |
| 15. Tanaman Anggrek Bulan dengan Penambahan PEG 6000 Pada Konsentrasi 40% ... | 78 |
| 16. Tanaman Anggrek Bulan Pada Rumah Kaca | 78 |
| 17. Tanaman Anggrek Bulan dengan Penambahan PEG 6000 Pada Konsentrasi 0% Pada Minggu Akhir Pengamatan..... | 78 |
| 18. Tanaman Anggrek Bulan dengan Penambahan PEG 6000 Pada Konsentrasi 10% Pada Minggu Akhir Pengamatan | 79 |
| 19. Tanaman Anggrek Bulan dengan Penambahan PEG 6000 Pada Konsentrasi 20% Pada Minggu Akhir Pengamatan | 79 |

| | |
|---|----|
| 20. Tanaman Anggrek Bulan dengan Penambahan PEG 6000 Pada Konsentra: Pada Minggu Akhir Pengamatan | 79 |
| 21. Tanaman Anggrek Bulan dengan Penambahan PEG 6000 Pada Konsentrasi 40% Pada Minggu Akhir Pengamatan | 80 |
| 22. Persiapan Alat yang Akan Digunakan untuk Uji Klorofil | 81 |
| 23. Persiapan Alat yang Akan Digunakan untuk Uj Kandungan Gula Reduksi | 81 |
| 24. Reagen Nelson untuk Uji Kandungan Gula Reduksi | 81 |
| 25. Pembuatan Ekstrak dan Penyaringan..... | 82 |
| 26. Esktrak Tanaman Anggrek Bulan untuk Uji Klorofil..... | 82 |
| 27. Ekstrak Tanaman Anggrek Bulan dalam Penangas Air untuk Uji Kandungan Gula Reduksi..... | 82 |

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Familia Orchidaceae merupakan salah satu tumbuhan dengan keanekaragaman tertinggi dalam kingdom Plantae, mencakup lebih dari 28.000 spesies yang tersebar di seluruh dunia. Sebagian besar spesies dalam familia ini memiliki nilai ekonomi dan ekologis yang tinggi, baik sebagai tanaman hias maupun sebagai bahan obat herbal. Anggrek termasuk dalam kelompok tumbuhan berbunga dengan tingkat keanekaragaman yang sangat tinggi, terutama dalam hal karakter morfologi (Liu *et al.*, 2022).

Salah satu anggrek yang terkenal adalah *Phalaenopsis amabilis* yang lebih dikenal sebagai anggrek bulan. Spesies ini merupakan anggrek epifit monopodial yang populer dalam industri tanaman hias karena memiliki keindahan bunga yang tahan lama, aroma yang khas, serta variasi warna yang sangat beragam. Selain itu, anggrek bulan juga telah ditetapkan sebagai puspa pesona Indonesia dan menjadi bunga nasional. Genus *Phalaenopsis* mencakup sekitar 60 jenis dan 140 varietas, yang tersebar luas di berbagai negara seperti Malaysia, Filipina, Indonesia, Papua, hingga Australia. Secara topografi, anggrek bulan dapat tumbuh di daerah dataran rendah hingga ketinggian 600 meter di atas permukaan laut. Sebagai tanaman epifit, anggrek bulan tumbuh dengan menempel pada inang, serta mendapatkan kelembapan dan nutrisi dari lingkungan sekitarnya (Liu *et al.*, 2022; Panal *et al.*, 2015).

Permintaan pasar global terhadap anggrek terus mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Hal ini mendorong perlunya pengembangan dan efektivitas budidaya anggrek agar dapat memenuhi kebutuhan pasar lokal serta meningkatkan kapasitas ekspor. Peningkatan produksi anggrek juga membuka peluang usaha dan lapangan pekerjaan baru di sektor tanaman hias. Pertumbuhan tanaman anggrek, khususnya jenis *Phalaenopsis* tergolong lambat sehingga dibutuhkan pemahaman yang lebih mendalam mengenai faktor-faktor yang dapat menunjang pertumbuhan dan produktivitasnya (Maizakusuma dkk., 2023).

Meskipun memiliki potensi besar, produksi anggrek di Indonesia mengalami penurunan dalam beberapa tahun terakhir. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS, 2023), produksi anggrek nasional tercatat sebesar 11,68 juta unit pada tahun 2020, menurun menjadi 11,35 juta unit pada tahun 2021, dan kembali mengalami penurunan signifikan menjadi 6,79 juta unit pada tahun 2022. Menurut Latifah dkk. (2017), faktor utama yang menyebabkan rendahnya produksi anggrek di Indonesia adalah terbatasnya ketersediaan bibit berkualitas, kurang efisiennya sistem budidaya, serta kurang optimalnya penanganan pasca panen.

Cekaman kekeringan merupakan salah satu faktor pembatas dalam budidaya anggrek di luar habitat alaminya. Kondisi ini memengaruhi hampir seluruh fase pertumbuhan tanaman, mulai dari perkecambahan, pemanjangan tunas dan akar, hingga proses pembungaan (Hapsari dkk., 2018). Menurut Sujinah dan Ali (2016), cekaman kekeringan terjadi ketika kandungan air dalam tanah berada pada tingkat minimum yang tidak mencukupi untuk mendukung pertumbuhan dan produksi tanaman secara optimal. Dampak negatif cekaman kekeringan terhadap tanaman mencakup perubahan pada aspek morfologis, fisiologis, dan biokimia. Cekaman ini juga berkontribusi terhadap penurunan laju transpirasi, perlambatan ekspansi luas daun, serta penutupan stomata. Akibatnya, terjadi pengurangan penyerapan unsur hara melalui aliran massa dan penurunan serapan CO₂ karena stomata tertutup.

Kedua hal tersebut menyebabkan laju fotosintesis menurun dan produksi asimilat oleh tanaman pun berkurang (Anggraini dkk., 2016; Bangar *et al.*, 2019).

Salah satu pendekatan yang efektif dan efisien dalam mengatasi cekaman kekeringan pada tanaman adalah melalui pemanfaatan varietas yang memiliki ketahanan terhadap kondisi kekeringan (Nurcahyani *et al.*, 2019d). Untuk menguji toleransi tanaman terhadap cekaman tersebut, dapat dilakukan melalui modifikasi lingkungan agar dampak kekeringan dapat diminimalkan, serta melalui perbaikan genotipe tanaman agar lebih adaptif terhadap kekeringan, atau dengan penerapan simulasi cekaman menggunakan senyawa *Polyethylene Glycol* (PEG). PEG merupakan senyawa yang larut dalam air dan dapat menciptakan kondisi serupa dengan kekeringan alami, karena mengurangi ketersediaan air dalam media tumbuh, menyerupai kondisi tanah yang kering. Penggunaan PEG memungkinkan pengamatan terhadap ketahanan tanaman dalam menghadapi cekaman kekeringan. PEG merupakan molekul kimia turunan etilen oksida yang mampu menurunkan tekanan osmotik melalui pembentukan ikatan hidrogen dengan molekul air. PEG digunakan pada dosis tertentu untuk mensimulasikan kondisi kekeringan pada media tanam (Hapsari dkk., 2018; Ilyani dkk., 2017).

Garri dkk. (2020) melaporkan bahwa aplikasi PEG 6000 pada tanaman sawi hijau berpengaruh negatif terhadap panjang dan lebar daun, bobot kering, serta kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total. Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa penggunaan PEG dapat membantu tanaman anggrek beradaptasi terhadap lingkungan yang mengalami cekaman. Feriza dkk. (2022) melaporkan bahwa pemberian PEG 6000 dalam konsentrasi tertentu secara *in vitro* pada anggrek *Dendrobium* sp. berdampak terhadap kandungan klorofil dan indeks stomata. Efektivitas PEG 6000 dalam mensimulasikan kondisi kekeringan juga telah dibuktikan pada penelitian sebelumnya terhadap jeruk keprok 55 (Ashari dkk., 2018), planlet buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) (Nurcahyani dkk., 2020), dan planlet kacang panjang (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) (Nurcahyani dkk., 2019c).

Penanda genetik merupakan gen atau urutan DNA yang posisinya telah diketahui pada kromosom dan memiliki keterkaitan dengan gen atau sifat tertentu. Penanda ini dapat berupa variasi yang muncul akibat mutasi atau perubahan pada lokus genom yang dapat terdeteksi (Al-Samarai and Al-Kaaz, 2015). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Nurcahyani *et al.* (2017), hasil amplifikasi PCR-RAPD pada tanaman vanili tahan *Fov* menunjukkan pita DNA berukuran 930 bp untuk primer OPB_14, 430 bp untuk primer OPB_20, dan 270 bp untuk primer OPB_19. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian pada anggrek bulan perlu dilakukan kajian lebih lanjut dalam lingkungan yang relevan yaitu skala *in vivo* dalam rumah kaca.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menentukan batas toleransi cekaman kekeringan tanaman *Phalaenopsis amabilis* melalui perlakuan Polyethylene Glycol (PEG) 6000 secara *in vivo*.
2. Menganalisis respons fisiologis tanaman *Phalaenopsis amabilis* meliputi kandungan klorofil a, klorofil b, klorofil total, kandungan gula reduksi, serta Indeks Toleransi Cekaman (ITC).
3. Mengidentifikasi polimorfisme DNA berbasis *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) pada tanaman *Phalaenopsis amabilis* yang diberi perlakuan cekaman dibandingkan dengan kontrol.

1.3. Kerangka Pikir

Familia Orchidaceae merupakan kelompok tumbuhan berbunga yang memiliki jumlah spesies sangat banyak. Salah satu contoh tanaman yang termasuk dalam famili ini adalah anggrek *Phalaenopsis amabilis*. Anggrek sendiri dikenal sebagai tanaman hias dengan nilai ekonomi tinggi, sehingga banyak dibudidayakan secara luas. Tingginya nilai ekonomi tersebut menyebabkan anggrek *Phalaenopsis amabilis* sering dieksploitasi di habitat aslinya, yang pada akhirnya mengancam kelestariannya. Berdasarkan data dari IUCN, status konservasi tanaman ini dikategorikan sebagai terancam punah.

Proses budidayanya, anggrek *Phalaenopsis amabilis* menghadapi kendala berupa cekaman kekeringan yang dapat menghambat pertumbuhannya. Keterbatasan ketersediaan air menjadi salah satu faktor yang menyulitkan petani dalam membudidayakan tanaman ini. Setiap tahunnya, kondisi kekeringan dapat terjadi dan menghambat pertumbuhan tanaman akibat kurangnya pasokan air yang memadai. Cekaman kekeringan pada tanaman dapat berdampak negatif terhadap laju fotosintesis dan perkembangan luas daun, yang pada akhirnya berkontribusi pada penurunan produktivitas tanaman.

Deteksi awal cekaman kekeringan dapat dilakukan dengan menggunakan PEG. Penanda molekular DNA banyak digunakan untuk mengetahui urutan genom tanaman. Program seleksi anggrek *Phalaenopsis amabilis* menggunakan PEG 6000 dan dengan deteksi PCR yang toleran kekeringan dinilai lebih tepat diarahkan untuk menghasilkan varietas unggul yang toleran terhadap cekaman kekeringan.

1.4. Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Terdapat konsentrasi PEG 6000 yang toleran untuk pertumbuhan tanaman *Phalaenopsis amabilis* yang resisten terhadap cekaman kekeringan secara *in vivo*.
2. Terbentuknya respons fisiologis tanaman *Phalaenopsis amabilis* meliputi kandungan gula reduksi, klorofil a, klorofil b, klorofil total, serta Indeks Toleransi Cekaman (ITC) .
3. Terdapat perbedaan polimorfisme DNA berbasis RAPD antara tanaman *Phalaenopsis amabilis* yang diberi perlakuan PEG dengan kontrol.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Anggrek Bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume]

Klasifikasi anggrek bulan dalam sistem klasifikasi Cronquist (1981) sebagai berikut.

Divisio : Magnoliophyta

Classis : Liliopsida

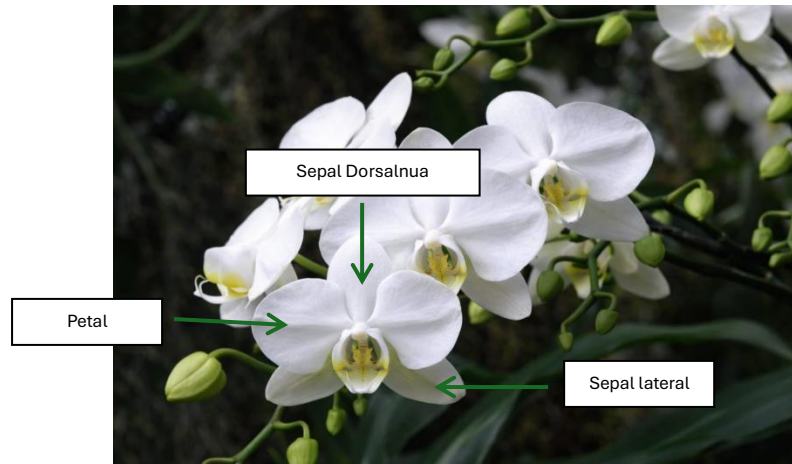
Ordo : Asparagales

Familia : Orchidaceae

Genus : *Phalaenopsis*

Species : *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume

Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) merupakan salah satu jenis anggrek yang memiliki daya tarik khas. Keindahannya terlihat dari variasi warna, bentuk, tekstur, serta aroma yang khas, menjadikannya salah satu bunga terindah. Selain itu, anggrek bulan memiliki masa mekar yang cukup lama. Tanaman ini banyak ditemukan di Pulau Jawa dan Sumatera, dengan ciri khas bunga yang berukuran lebih besar dan berwarna beragam (Erfa dkk., 2020; Fauziah dkk., 2014). Karakteristik morfologi anggrek bulan tersebut dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Tanaman *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl. (Djufri dkk, 2015).

Anggrek bulan memiliki struktur tubuh yang terdiri dari akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji. Tanaman ini bersifat epifit yang berarti tumbuh menempel pada permukaan kulit pohon tanpa merugikan inangnya dengan seluruh bagian tubuhnya berada di udara. Anggrek bulan mempunyai ciri batangnya cenderung pendek, daunnya berbentuk jorong dengan panjang sekitar 20–30 cm dan lebar 7–12 cm. Bunga anggrek bulan tersusun dalam rangkaian berbentuk tandan yang bercabang dengan maksimal dua kuntum per tandan. Bunga anggrek bulan memiliki susunan majemuk, terdiri dari tiga sepal dan tiga petal yang tersusun berselang-seling dengan kelopak bunga. Anggrek bulan memiliki dua jenis akar, yaitu akar lekat dan akar udara. Akar lekat berfungsi sebagai penopang agar tanaman tetap menempel di tempatnya. Sementara itu, akar udara berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman dengan menyerap unsur hara. (Arobaya, 2022; Zhang *et al.*, 2018).

Dalam praktik budidaya, fase pembibitan merupakan fase krusial yang menentukan keberhasilan pertumbuhan tanaman. Hal ini meliputi penanaman, pemilihan media tanam yang tepat, penyiraman, pengelolaan pemupukan, serta pengendalian hama dan penyakit. Masa pembibitan pada anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) adalah tahap awal yang memainkan peran kunci dalam membentuk kualitas dan kesehatan tanaman. Kualitas pemeliharaan selama fase ini akan memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman pada tahap selanjutnya hingga mencapai fase dewasa. Pemilihan media tanam

yang tepat sangat penting karena berdampak langsung pada kemampuan akar dalam menyerap air dan nutrisi, sehingga mendukung mekanisme fotosintesis pada tanaman (Tini *et al.*, 2019; Yasmin dkk., 2018).

2.2. Cekaman Kekeringan

Cekaman kekeringan merupakan salah satu tekanan lingkungan yang menyulitkan tanaman dalam menyerap air dari tanah. Kemampuan tanaman untuk bertahan pada kondisi kekeringan berbeda-beda antar spesies, sehingga mereka perlu melakukan adaptasi terhadap lingkungan untuk mempertahankan kelangsungan hidup. Tanaman yang mengalami kekeringan berkepanjangan akan menunjukkan perubahan pada morfologi, anatomi, fisiologi, dan proses biokimia, yang pada akhirnya dapat berujung pada kematian (Embiale *et al.*, 2016; Suharti dkk., 2017).

Cekaman kekeringan terjadi ketika tanaman tidak mendapatkan cukup air, sehingga pertumbuhan dan perkembangannya terhambat, yang pada akhirnya berdampak pada penurunan hasil produksi. Masalah ini menjadi salah satu tantangan utama dalam sektor pertanian di seluruh dunia. Tanda-tanda kekeringan dapat diamati pada fase pertumbuhan vegetatif, seperti berkurangnya berat tanaman, mengecilnya diameter batang, serta daun yang berukuran lebih kecil. Selain itu, kekeringan juga memengaruhi proses pertumbuhan, perkembangan, dan hasil panen tanaman, terutama selama tahap pengisian biji dan fase perkembangan lainnya (Farooq *et al.*, 2009; Jamaludin dan Ranchiano, 2021).

Defisit air umumnya terjadi akibat rendahnya curah hujan, sehingga kelembapan tanah menurun dan potensi air pada bagian udara tanaman, seperti daun dan batang, menjadi rendah. Kekeringan pada tanaman dapat memicu perubahan morfologi, anatomi, fisiologi, dan biokimia. Cekaman kekeringan terkait erat dengan kekurangan air; kondisi ini menyebabkan stomata menutup, menghambat penyerapan CO₂, serta menurunkan aktivitas

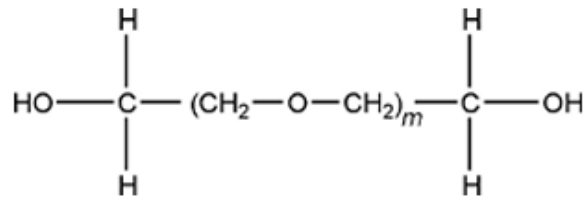
fotosintesis. Selain itu, defisit air juga dapat mengganggu sintesis protein dan pembentukan dinding sel. Salah satu metode yang digunakan untuk menguji ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan adalah perlakuan dengan senyawa *Polyethylene Glycol* (PEG) (Rahayu, 2005; Ristvey *et al.*, 2019).

Dalam kondisi kekeringan, laju kehilangan air melalui transpirasi daun dapat melebihi kemampuan akar dalam menyerap air dari lingkungan yang kering. Sebagai respons adaptif, akar memperluas jangkauannya untuk menyerap lebih banyak air, sementara stomata menutup untuk meminimalkan kehilangan air. Gejala stres kekeringan yang umum pada tanaman meliputi pengguguran daun, layu, daun menguning, daun terbakar, hingga layu permanen. Respons tanaman terhadap defisit air sangat dipengaruhi oleh kejadian dan intensitas stres kekeringan sebelumnya, serta keberadaan stres lingkungan lain yang bersamaan (Goche *et al.*, 2020; Martínez and Garcia., 2017).

2.3. Polyethylene Glycol (PEG)

Polyethylene glycol (PEG) merupakan senyawa osmotikum yang umum digunakan untuk menstimulasi cekaman kekeringan pada tanaman secara *in vitro*. Senyawa ini memiliki keunggulan dibandingkan senyawa lain dalam menurunkan potensial air. PEG 6000 sebagai salah satu zat kimia non-toksik mempunyai berat molekul tinggi dengan konsentrasi tertentu mampu menimbulkan kondisi kekurangan air serupa dengan tanah kering (Mirbahar *et al.*, 2013; Paletti dkk., 2019).

Polyethylene glycol (PEG) memiliki nama kimia α -*Hydro- ω -hidroxypol (oxy-1,2-ethanediyl)* dan dikenal dalam bidang farmasi dengan berbagai nama, seperti Lipoxol, Lutrol E, Macrogola, Carbowax, dan Pluriol E. Bentuk fisik PEG bervariasi tergantung pada berat molekulnya, di mana PEG 200-600 berbentuk cair, PEG 1500 bersifat semi padat, sementara PEG 3000-20000 atau lebih berbentuk padatan semi kristalin atau resin pada suhu kamar (Rowe, 2009). Struktur kimia PEG disajikan dalam **Gambar 2**.



Gambar 2. Struktur Kimia Polyethylene Glycol (Rowe, 2009).

PEG tidak mudah larut dalam air bersuhu tinggi dan sering digunakan sebagai agen seleksi dalam penelitian ketahanan gen terhadap kekeringan. Senyawa ini bekerja dengan cara menarik air dari dinding sel sehingga meningkatkan tekanan osmotik. Selain itu, PEG dapat menurunkan potensial osmotik larutan melalui aktivitas sub-unit etilena oksida yang mampu mengikat molekul air dengan ikatan hidrogen, menciptakan kondisi cekaman kekeringan. Dibandingkan dengan manitol, sorbitol, atau garam, PEG 6000 lebih unggul karena tidak bersifat toksik, tidak diserap oleh akar, serta mampu menurunkan potensial osmotik larutan secara homogen (Gharoobi *et al.*, 2012; Rahayu dkk, 2005).

2.4. Biosintesis Klorofil

Klorofil merupakan pigmen hijau yang terdapat pada sebagian besar tanaman. Nama klorofil berasal dari bahasa Yunani, yaitu *chloros* yang berarti hijau dan *phyllon* yang berarti daun. Klorofil a yang berwarna hijau kekuningan, berfungsi sebagai pigmen utama dalam fotosintesis pada tanaman hijau dengan mentransfer energi cahaya ke akseptor kimia. Cahaya yang diserap oleh klorofil menyediakan energi yang diperlukan dalam proses fotosintesis. Pigmen fotosintetik memungkinkan tanaman menyerap energi dari cahaya, sehingga kadar klorofil dalam daun menjadi faktor utama yang memengaruhi efisiensi fotosintesis tanaman (Inanc, 2011; Hailemichael *et al.*, 2016).

Secara umum, peranan pigmen dalam tumbuhan sebagai pigmen warna mencakup tiga kelas pigmen yaitu pigmen klorofil, karoten, dan antosianin. Klorofil merupakan pigmen warna hijau, karoten merupakan pigmen warna

kuning, oranye dan merah, sedangkan antosianin merupakan pigmen warna merah, biru, dan ungu. Klorofil merupakan pigmen esensial dalam fotosintesis yang ditemukan pada berbagai organisme, termasuk tanaman tingkat tinggi, pakis, lumut, alga, dan beberapa organisme prokariotik. Pigmen ini terdiri dari dua jenis utama, yaitu klorofil a dan klorofil b, di mana klorofil b berfungsi sebagai pigmen pendukung. Dalam proses fotosintesis, klorofil menjalankan tiga fungsi utama, yaitu memanfaatkan energi cahaya matahari, memicu fiksasi CO₂ menjadi karbohidrat, dan menyediakan energi bagi ekosistem. Karbohidrat yang terbentuk kemudian diubah menjadi berbagai senyawa organik melalui proses anabolisme (Croft and Chen, 2018; Hashimoto *et al.*, 2016; Khoo *et al.*, 2017; Inanc, 2011).

Klorofil merupakan komponen utama dalam kloroplas yang berperan dalam fotosintesis. Kandungan klorofil yang lebih tinggi akan meningkatkan efisiensi proses fotosintesis. Namun, kondisi lingkungan seperti cekaman kekeringan dapat memengaruhi fungsi metabolisme tanaman, terutama dalam menghambat sintesis klorofil. Salah satu respons fisiologis tanaman terhadap cekaman kekeringan adalah penurunan kadar klorofil dalam daun. Jika tanaman mengalami kekurangan air, pembentukan klorofil akan terganggu, sehingga fotosintesis menjadi kurang efektif. Selain faktor lingkungan, keberlangsungan fotosintesis juga dapat dipengaruhi oleh infeksi patogen seperti *Fusarium*. Infeksi ini dapat mengganggu reaksi terang dan gelap dalam fotosintesis. Penurunan kadar klorofil akibat infeksi dapat menyebabkan nekrosis dan kelayuan pada daun, karena jaringan fotosintesis tidak dapat menyerap cahaya secara optimal. Senyawa toksik yang dihasilkan oleh patogen dapat merusak jaringan fotosintesis, khususnya klorofil a dan klorofil b. Hal ini menghambat penyerapan cahaya yang diperlukan untuk menghasilkan energi dalam proses fotosintesis. Klorofil a cenderung lebih rentan terhadap kerusakan dibandingkan klorofil b, sehingga defisitnya lebih drastis. Penetrasi patogen ke dalam sel inang juga dapat menyebabkan nekrosis dan klorosis akibat senyawa toksik yang merusak kloroplas (Dehgahi *et al.*, 2015; Dehgahi *et al.*, 2016; Nurcahyani dkk., 2019c).

2.5. Gula Reduksi

Gula pereduksi merupakan jenis karbohidrat yang memiliki kemampuan untuk mereduksi senyawa penerima elektron, seperti glukosa dan fruktosa. Gula reduksi adalah gula yang mampu melakukan proses reduksi karena memiliki gugus aldehid (aldosa) atau gugus keton (ketosa) bebas. Aldosa mudah mengalami oksidasi menjadi asam aldonat, sedangkan ketosa hanya dapat bereaksi dalam lingkungan basa. Secara umum, reaksi ini digunakan dalam analisis kuantitatif kandungan gula. Salah satu metode awal dalam analisis kuantitatif gula adalah dengan menggunakan larutan Fehling. Mekanisme reaksi berlangsung melalui proses redoks yang sistematis, di mana gugus aldehid pada gula pereduksi berperan sebagai zat pereduksi. Gugus fungsional ini mereduksi ion tembaga(II) (Cu^{2+}) dari larutan Fehling menjadi ion tembaga(I) (Cu^+), yang kemudian mengendap sebagai tembaga(I) oksida (Cu_2O) dengan warna merah bata yang khas. Ketika larutan Fehling dicampur dengan sampel yang mengandung gula pereduksi dan dipanaskan, larutan mengalami rangkaian perubahan warna yang dapat diamati (Rohman, 2013).

Warna biru awal dari campuran reagen secara bertahap berubah melalui hijau dan kuning sebelum akhirnya menjadi kemerahan, di mana intensitas perubahan warna dan jumlah endapan yang terbentuk berbanding lurus dengan konsentrasi gula pereduksi dalam sampel. Contoh gula pereduksi antara lain maltosa dan laktosa. Sifat pereduksi dari gula ini disebabkan oleh keberadaan gugus aldehid dan keton bebas yang memungkinkan gula mereduksi ion-ion logam. Beberapa contoh gula yang termasuk dalam kategori gula pereduksi adalah glukosa, fruktosa, laktosa, maltosa, dan lain sebagainya (Nunes *et al.*, 2024).

Metode Nelson-Somogyi digunakan untuk menentukan kadar gula reduksi dengan memanfaatkan pereaksi tembaga-arsenol-molibdat. Dalam metode ini, reagen Nelson-Somogyi berfungsi sebagai oksidator dalam reaksi antara

kuprooksida dan gula reduksi, yang menghasilkan endapan berwarna merah bata. Pereaksi Somogyi terdiri dari larutan tembaga alkali yang mengandung Na_2PO_4 anhidrat serta garam K-Na-tartrat (garam Rochelle), sedangkan pereaksi Nelson mengandung amonium molibdat $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}]$ dan natrium arsenat (Na_2HAsO_7). Konsentrasi gula dalam sampel dapat ditentukan dengan membandingkan hasil reaksi warna terhadap larutan standar, kemudian mengukur absorbansinya. Prinsip metode Somogyi-Nelson didasarkan pada reduksi ion Cu^{2+} menjadi ion Cu^+ dengan adanya gula reduksi ion Cu^+ selanjutnya mereduksi kompleks arsenomolibdad. Reagen yang digunakan umumnya merupakan campuran kupri sulfat, natrium karbonat, natrium sulfat, serta K-Na-tartrat (reagen Nelson-Somogyi) (Rohman, 2013).

2.6. Deteksi Mutan dengan PCR

Seiring dengan kemajuan ilmu Biologi Molekular, penggunaan penanda molekular berbasis DNA semakin luas dalam mengungkap urutan genom tanaman, merevolusi genetika molekular, serta meningkatkan efisiensi dalam program pemuliaan tanaman. Penanda DNA menjadi metode yang lebih unggul dibandingkan penanda berbasis protein dalam memperoleh informasi genetik yang lebih mendalam. Keunggulan utama penanda DNA adalah penggunaannya yang tidak terbatas, mencakup seluruh genom tanaman, tidak terpengaruh oleh regulasi perkembangan tanaman, serta memiliki tingkat akurasi yang tinggi dalam menggambarkan keragaman karakter antar individu (Sihotang dkk., 2022).

Pendekatan morfologi untuk tanaman tahunan sulit dilakukan, karena umur tanaman panjang. Selain itu, lingkungan juga mempengaruhi fenotip tanaman. Menurut Hamouda (2019), identifikasi sifat tanaman dengan teknologi lebih modern mampu memberikan informasi lebih detail, tanpa dipengaruhi lingkungan dalam waktu yang cepat. Salah satunya adalah penggunaan teknologi marka molekuler DNA. Penanda molekuler dilaporkan

menjadi metode yang dapat diandalkan untuk memperkirakan hubungan filogenetik antara genotipe organisme apapun, selain itu penanda molekuler dianggap sebagai pilihan tepat untuk digunakan dalam studi keragaman genetik tanaman karena karakterisasi yang jelas dari sumber daya genetiknya pada tingkat DNA (Barcaccia *et al.*, 2016; Cui *et al.*, 2017).

Penanda molekuler sendiri merupakan rangkaian nukleotida yang dapat dianalisis melalui polimorfisme antar individu. Polimorfisme ini muncul akibat mutasi, seperti insersi, delesi, mutasi titik, dan translokasi, meskipun tidak selalu berdampak pada aktivitas gen. Berbagai jenis penanda molekuler DNA telah dikembangkan dan diterapkan dalam genetika serta pemuliaan tanaman di bidang pertanian. Salah satu metode yang sering digunakan dalam analisis keragaman genetik tumbuhan adalah *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Metode ini berbasis *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan sering digunakan untuk mengidentifikasi keragaman genetik pada tingkat intraspesies maupun antarspesies. Teknik RAPD memiliki keunggulan dalam proses pelaksanaan dan analisisnya, terutama dibandingkan dengan penanda DNA lain seperti *Restriction Fragment Length Polymorphisms* (RFLP) dan *Simple Sequence Repeats* (SSR). RAPD lebih ekonomis, mudah diterapkan, menghasilkan data dengan cepat, mampu mendeteksi polimorfisme pita DNA dalam jumlah besar, serta memungkinkan penggunaan primer acak untuk menganalisis genom berbagai organisme (Langga dkk., 2012; Nadeem *et al.*, 2018).

Random Amplified Polimorphic DNA (RAPD) adalah salah satu teknik studi keragaman genetik yang banyak digunakan. Keuntungan dari penggunaan marka molekuler RAPD hanya memerlukan kuantitas DNA yang kecil dan mudah karena tidak memerlukan proses radiaktif, blotting dan hibridisasi, serta dengan cepat dapat mendeteksi polimorfisme pada sejumlah lokus (Jonah *et al.*, 2011; Selaocoe *et al.*, 2019). RAPD memiliki tingkat replikasi yang rendah, tetapi sangat efisien dalam menganalisis keragaman genetik karena tidak memerlukan sekuens data untuk merancang primer molekuler (Ganie *et al.*, 2015; Singh *et al.*, 2014). Analisis RAPD yang digunakan saat

ini studi untuk penilaian keragaman genetik adalah karena kesederhanaannya, cepat dan mudah dilakukan dan relatif lebih murah dan kebutuhan tidak ada kesadaran akan urutan DNA (Brandolini *et al.*, 2014; Tripathi *et al.*, 2012).

Dalam ekstraksi DNA, terdapat tiga tahapan utama, yaitu lisis (perusakan dinding sel), pemisahan DNA dari komponen padat seperti selulosa dan protein, serta tahap pemurnian DNA. Proses ini bertujuan untuk memisahkan DNA dari komponen seluler lain, seperti protein, RNA, dan lemak.

Keberhasilan PCR bergantung pada pemilihan primer yang tepat, oleh karena itu, untuk mendapatkan primer yang optimal, diperlukan kriteria desain tertentu (Shehadul Islam *et al.*, 2017; Sasmitha *et al.*, 2018). Sasamito dkk (2014) menjelaskan bahwa primer merupakan molekul oligonukleotida untai tunggal yang terdiri dari sekitar 30 basa dan memiliki peran penting dalam proses PCR. Teknik PCR sendiri bertujuan untuk mengamplifikasi atau memperbanyak DNA secara *in vitro* (Bartlett and Stirling, 2003; Carson *et al.*, 2019). El Sheikha *et al.* (2018) menambahkan bahwa sampel DNA, atau yang dikenal sebagai template, digunakan untuk menghasilkan segmen DNA dengan panjang dan urutan basa tertentu. Sementara itu, menurut Wilson and Walker (2022), PCR merupakan metode yang cepat, sensitif, dan akurat dalam mengamplifikasi DNA target.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan April-Agustus 2025 di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung serta Laboratorium Rekayasa Genetika, Pusat Studi Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *cup glass plastic*, botol semprot, timbangan analitik Ohaus, botol kultur berukuran 250 mL, gelas ukur 100 mL, beaker glass 1 L, aluminum foil, *mortar dan pestle*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kertas saring, tisu, kertas label, corong, mikropipet, batang pengaduk, *waterbath*, *centrifuge*, vortex, *microwave*, mesin PCR, Tube PCR, alat untuk elektroforesis yaitu sisir pencetak sumuran, Spektrofotometer UV merk *Shimadz*, dan kamera.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah anggrek bulan [*Phalenopsis amabilis* (L). Blume], media kadaka, akuades, alkohol 70%, Polyethylene Glycol (PEG), alkohol 96%, glukosa, reagensia Nelson a, reagensia Nelson b, reagensia arsenomolybdat, buffer ekstraksi (2% CTAB, 100 μ m Tris-HCl (pH 8), 1.4 M NaCl, 2% β -mercaptoethanol, 20 mM EDTA (pH 8)), kloroform:isoamil alkohol (24:1), akuabides steril, TE, primer OPB_14,

primer OPB_20, Premix PCR (Kit bio line 12,5 μL , primer 2,0 μL pada konsentrasi 100 μM , DNA template 2,0 μL pada konsentrasi 40 ng/ μL dan Nuclease Free Water 8,5 μL). Elektroforesis dengan buffer (500 mL buffer 1x, minigelagarose 1,5 % (g/v), *good view*).

3.3. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor dengan 5 taraf konsentrasi PEG 6000 yang terdiri atas 0% (K1), 10% (K2), 20% (K3), 30% (K4) dan 40% (K5). Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali, yang setiap ulangan terdiri dari 1 tanaman anggrek bulan. Parameter yang diuji yaitu indeks toleransi cekaman, kandungan klorofil a, klorofil b, klorofil total, kandungan gula reduksi, indeks toleransi cekaman kekeringan, dan analisis pola DNA. Tata letak percobaan disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Tata Letak Satuan Percobaan

| Jenis Sampel | | | | |
|---------------------|------|------|------|------|
| K3U1 | K3U1 | K3U1 | K3U1 | K3U1 |
| K1U5 | K1U5 | K1U5 | K1U5 | K1U5 |
| K4U3 | K4U3 | K4U3 | K4U3 | K4U3 |
| K4U1 | K4U1 | K4U1 | K4U1 | K4U1 |
| K3U4 | K3U4 | K3U4 | K3U4 | K3U4 |

Keterangan:

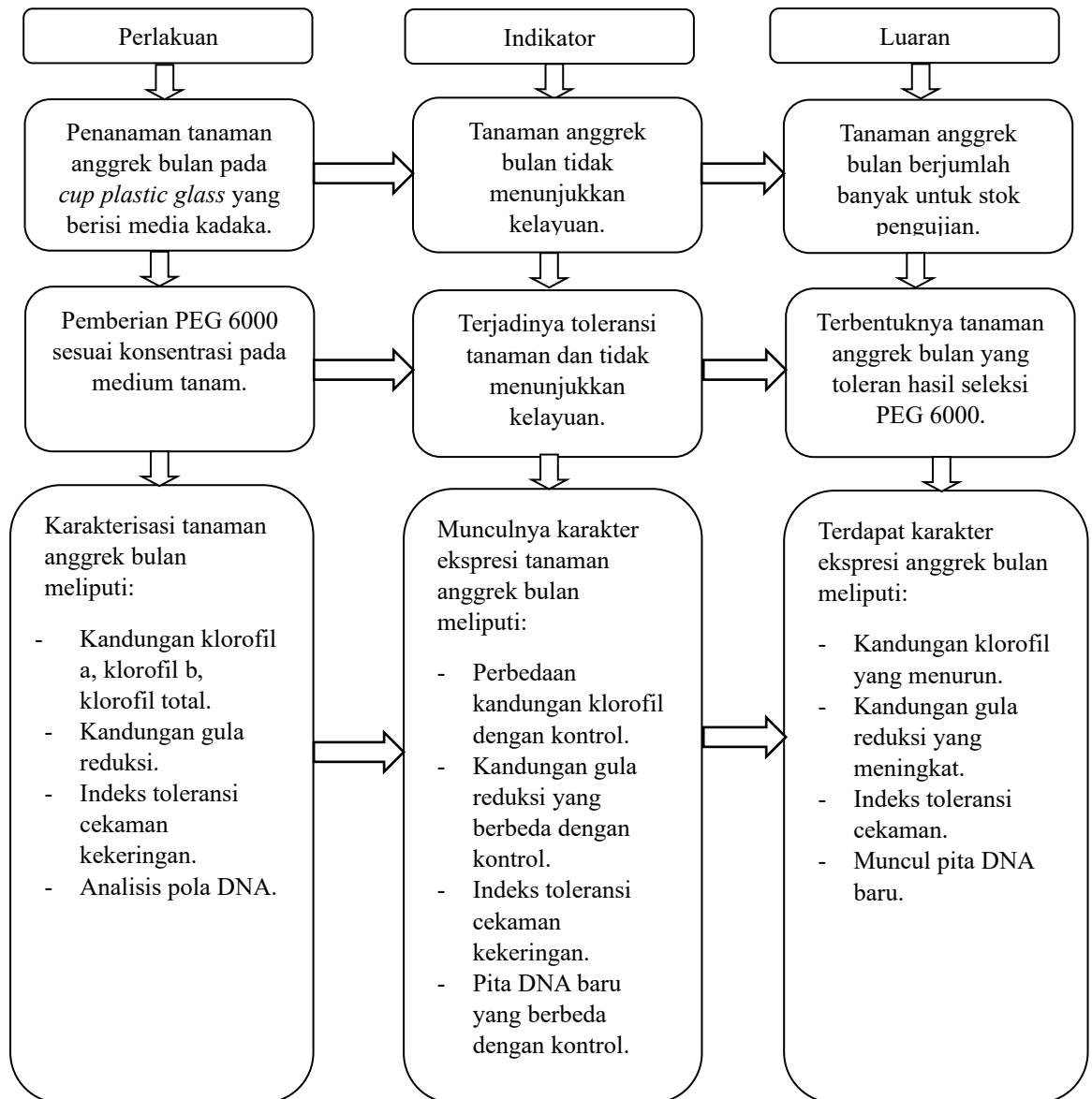
K1-K5: Konsentrasi PEG

U1-U5: Ulangan 1- Ulangan 5

3.4. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan, yaitu 1). Penanaman bibit anggrek bulan ke dalam *cup plastic glass* yang berisi media tanam kadaka; 2). Penentuan kisaran konsentrasi PEG 6000 toleran untuk seleksi tanaman anggrek bulan; 3). Analisis karakter yang spesifik pada anggrek bulan resisten terhadap cekaman kekeringan meliputi kandungan klorofil a, klorofil

b, klorofil total, kandungan gula reduksi, indeks cekaman toleran (ITC), dan analisis pola DNA. Tahapan penelitian disajikan dalam bentuk diagram alir seperti tercantum pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Bagan Alir Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa langkah yaitu sebagai berikut.

3.4.1. Persiapan Medium Tanam

Pada penelitian ini menggunakan lahan dengan ukuran 1 x 1 m. Sebelumnya lahan dibersihkan dan diberi alas. Media tanam yang digunakan yaitu media kadaka, kemudian media yang sudah siap dimasukkan ke dalam *cup plastic glass* sebanyak 25 buah yang berukuran 1/4 kg dan disusun pada masing-masing petakan.

3.4.2. Penanaman Anggrek Bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume]

Pada medium tanam yang telah dipersiapkan, selanjutnya bibit anggrek bulan ditanam pada 25 buah *cup plastic glass* yang tersedia.

3.4.3. Pembuatan Larutan PEG 6000

Pembuatan PEG 6000 dilakukan dengan cara melarutkan PEG 6000 dalam akuades sesuai konsentrasi 0%, 10%, 20%, 30% dan 40%. Pada konsentrasi 10% dilarutkan PEG sebanyak 10 gram di dalam 100 ml akuades, konsentrasi 20% dilarutkan PEG sebanyak 20 gram di dalam 100 ml akuades, konsentrasi 30% dilarutkan PEG sebanyak 30 gram di dalam 100 ml akuades, dan konsentrasi 40% dilarutkan PEG sebanyak 40 gram di dalam 100 ml akuades.

3.4.4. Pengaplikasian PEG 6000 dan Pengamatan

Anggrek bulan yang berumur 3 bulan diberikan larutan PEG 6000 dengan cara disiram 1 kali yaitu sebanyak 20 ml pada masing-masing medium tanam sesuai dengan konsentrasi PEG 6000 yang tertera pada label *polybag*. Sedangkan pada PEG 6000 dengan konsentrasi 0% (kontrol) tetap dilakukan penyiraman menggunakan air seperti biasanya. Pengamatan dilakukan selama 4 minggu setelah diberi PEG 6000 untuk mengetahui karakterisasi tanaman anggrek bulan dan analisis pola DNA.

3.4.5. Karakterisasi Anggrek Bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume]

Karakterisasi tanaman anggrek bulan terhadap cekaman kekeringan ditinjau melalui indeks toleransi cekaman, kandungan klorofil, kandungan gula reduksi, dan analisis pola DNA.

3.4.5.1. Kandungan Klorofil

Bahan yang digunakan untuk analisis klorofil yaitu daun tanaman anggrek bulan yang telah diseleksi dengan PEG 6000 menggunakan metode Miazek (2002) dengan spektrofotometer. Daun tanaman anggrek bulan yang seragam sebanyak 0,1 gram, kemudian digerus dengan mortar dan ditambahkan 10 ml ethanol 96%. Larutan disaring dengan kertas *Whatman* No. 1 dan dimasukkan ke dalam flakon lalu ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar (etanol 96%) diambil sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam kuvet. Setelah itu, dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang sebesar 664 nm dan 648 nm dengan tiga kali ulangan setiap sampel. Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan Rumus *Wintermans* dan *De Mots* (1965):

$$\text{Chl}_a = 13,36 A_{664} - 5,19 A_{648} \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{Chl}_b = 27,43 A_{648} - 8,12 A_{664} \dots\dots\dots(2)$$

$$\text{Chl}_{\text{total}} = 22,24 A_{648} + 5,24 A_{664} \dots\dots\dots(3)$$

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

3.4.5.2. Indeks Toleransi Cekaman (ITC)

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

$$\text{ITC} = \frac{Y_{pi} \times Y_{si}}{(Y_p)^2} \times 100\% \dots\dots\dots(4)$$

Keterangan:

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

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

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

3.4.5.3. Kandungan Gula Reduksi

Ekstrak daun anggrek bulan segar (larutan ekstrak harus jernih) masing-masing konsentrasi diambil 1 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL regensia nelson ke setiap tabung. Larutan yang telah ditambahkan regensia nelson kemudian dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit. Larutan tersebut kemudian didinginkan di dalam gelas piala yang berisi air dingin sampai suhu tabung 25°C , lalu ditambahkan 1 mL regensia arsenomolybdat, homogenkan hingga endapan larut. Setelah homogen, ditambahkan 7 ml akuades dan dikocok hingga homogen. Larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 695 nm, kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi glukosa dengan absorbansi.

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

$$\text{Kandungan gula reduksi (\%)} = \frac{X.FP.VL}{BS} \times 100\% \dots \dots \dots (5)$$

Keterangan:

- X = Nilai X Sampel (g/L)
- FP = Faktor Pengenceran
- VL = Volume Larutan Sampel (L)
- BS = Massa Sampel (g)

3.4.5.4.Pola DNA

1. Isolasi DNA Anggrek Bulan

Ekstraksi DNA dilakukan berdasarkan metode Doyle and Doyle (1990). Sebanyak 0,1 gram sampel daun anggrek bulan segar ditimbang dan digerus menggunakan mortar dan *pestle*, kemudian ditambahkan 1,5 mL buffer ekstraksi yang mengandung 2% CTAB, 100 mM Tris-HCl pH 8, 1,4 M NaCl, 2 mercaptoethanol, dan 20 mM EDTA pH 8. Suspensi tersebut dimasukkan ke dalam tabung eppendorf dan diinkubasi pada suhu 65 °C selama 40 menit dalam waterbath, dengan pengadukan secara kontinyu. Setelah itu, suspensi disentrifugasi pada 14.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan dipindahkan ke dalam tabung eppendorf baru sebanyak 1,5 µL dan ditambahkan 1x campuran kloroform: isoamilalkohol (24:1).

Tabung eppendorf divortex hingga homogen dan disentrifugasi pada 14.000 rpm selama 10 menit. Lapisan bagian atas (supernatan) diambil, kemudian ditambahkan Isopropanol dingin (-20°C). Campuran tersebut diinkubasi pada -20°C selama 1 jam, kemudian disentrifugasi pada

kecepatan 14.000 rpm selama 4 menit dan supernatan dibuang. Pelet DNA yang terbentuk dicuci dengan 500 μL etanol 70% dan disentrifugasi pada 14.000 rpm selama 3 menit. Cairan etanol dibuang, dan pelet DNA yang dihasilkan dikeringkan, kemudian ditambah dengan 100 μL air steril dan disimpan pada suhu -20°C .

2. Pola DNA Anggrek Bulan dengan Metode RAPD (PCR-RAPD)

Untuk analisis PCR menurut William *et al.* (1990), DNA *template* yang telah dilarutkan dalam TE disiapkan dengan primer yang digunakan sesuai dengan **Tabel 2**. Premix PCR disiapkan dengan komposisi: kit Bio Line sebanyak 12,5 μL , primer 2,0 μL pada konsentrasi 100 μM , DNA *template* 2,0 μL pada konsentrasi 40 ng/ μL , dan *Nuclease Free Water* sebanyak 8,5 μL , sehingga volume totalnya adalah 25,00 μL . Primer RAPD yang digunakan tercantum dalam **Tabel 2**.

Tabel 2. Primer RAPD untuk *Phalaenopsis amabilis*

| No | Primer | Urutan Nukleotida (5' – 3') | Referensi |
|----|--------|--------------------------------|-------------------------------------|
| 1. | OPB_14 | TCC GCT CTG G | Nurcahyani <i>et al.</i> , 2017. |
| 2. | OPB_20 | GGA CCC TTA C | Nurcahyani <i>et al.</i> , 2017. |

Proses amplifikasi dilakukan menggunakan mesin PCR (*GenAmp 2400*) dengan kondisi reaksi PCR yang berdasarkan mengikuti metode William *et al.* (1990) disajikan pada **Tabel 3** berikut:

Tabel 3. Kondisi Reaksi PCR – RAPD

| Reaksi | Temperatur (°C) | Waktu (Detik) |
|----------------|-----------------|---------------|
| Pre-denaturasi | 95 | 180 |
| Denaturasi | 95 | 15 |
| Annealing | 36 | 15 |
| Elongasi | 72 | 30 |
| Post-elongasi | 72 | 420 |

3. Elektroforesis

Elektroforesis dilakukan dengan metode Sambrook *et al.* (1989). Pembuatan 500 mL buffer TBE 1x dilakukan dengan mencampurkan 50 mL larutan buffer TBE 10x dengan aquades hingga volume mencapai 500 mL. Minigel agarose 1,5% (g/v) dibuat dengan cara menambahkan 1,5 g agarose ke dalam 100 mL buffer TBE 1x, kemudian dipanaskan menggunakan microwave hingga semua agarose larut. Setelah itu, larutan didinginkan hingga suhu 50-55°C, dan ditambahkan 5 µL *Good View*. Agarose cair dituangkan ke dalam *glassplate* dan sisir, kemudian didiamkan selama sekitar 30 menit hingga mengeras. Sampel DNA sebanyak 25 µL hasil PCR dimasukkan ke dalam sumuran gel, dan 10 µL DNA marker dimasukkan ke sumuran lainnya. Gel dimasukkan ke dalam tangki elektroforesis yang telah diisi dengan buffer TBE 1x dan dijalankan pada tegangan 100 volt selama 30 menit. Hasil elektroforesis divisualisasi dengan sinar UV menggunakan UV Transiluminator.

3.5. Analisis Data

Data berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif yang didukung oleh foto. Data kuantitatif ditabulasi dengan faktor konsentrasi yang berbeda. Data kuantitatif dari setiap parameter dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam (*Analysis of Variance*) dan jika terdapat perbedaan nyata dilakukan uji dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf nyata 5% (Sastrosupadi, 2000).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Konsentrasi PEG 6000 sebesar 40% merupakan batas toleransi cekaman kekeringan yang masih mampu dipertahankan oleh tanaman *Phalaenopsis amabilis*.
2. Respon fisiologis yang terbentuk pada tanaman *Phalaenopsis amabilis* terhadap cekaman kekeringan yang diinduksi PEG 6000 secara *in vivo* meliputi:
 - a. Semakin tinggi konsentrasi PEG 6000 maka kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total mengalami penurunan.
 - b. Semakin tinggi konsentrasi PEG 6000 maka kandungan gula reduksi semakin meningkat.
 - c. Indeks toleransi cekaman *Phalaenopsis amabilis* dengan konsentrasi PEG 40% digolongkan tanaman toleran kekeringan.
3. Terdapat pita DNA baru (spesifik) pada tanaman *Phalaenopsis amabilis* hasil pemberian PEG 6000 toleran terhadap cekaman kekeringan, pada primer OPB_14 dengan ukuran ± 500 bp dan primer OPB_20 dengan ukuran ± 390 bp dan ± 500 bp.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan secara *in vivo* pada tanaman *Phalaenopsis amabilis*, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai analisis kimia seperti kandungan prolin, dan analisis *sequencing*.

DAFTAR PUSTAKA

- Achyar, A., Fuadiyah, S., Kanaya, O. N., Pratiwi, N., Chatri, M., and Violita, V. 2024. Stability analysis of the genetic profile of drought-stressed rice (*Oryza sativa* L.). *BIO Web of Conferences*, 91, 01001.
- Afzal, S., Chaudhary N., and Singh N.K. 2021. Plant Growth. Regulators: Signalling under Stress Conditions. *Springer Nature*. pp. 305–334.
- Anggraini, N, E Faridah, dan S Indrioko. 2016. Pengaruh cekaman kekeringan terhadap perilaku fisiologis dan pertumbuhan bibit Black Locust (*Robinia pseudoacacia*). *Jurnal Ilmu Kehutanan*. 9: 40–56.
- Al Kayyis, H. K. dan Susanti, H. 2016. Perbandingan Metode Somogyi-Nelson dan Anthrone-Sulfat pada Penetapan Kadar Gula Pereduksi dalam Umbi Cilembu (*Ipomea batatas* L.). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. 13(2): 81-89.
- Al-Samarai, F.R., and Al-Kazaz, A.A. 2015. Molecular markers: An introduction and applications. *European journal of molecular biotechnology*. 9(3): 118-130.
- Altaf, A., Gull, S., Zhu, X., Zhu, M., Rasool, G., Ibrahim, M. E. H., Aleem, M., Uddinm S., Saeed, A., Shah, A. Z., Zada, A., Quan, M., Yonggang, D., Xu, D., and Chen, Li. 2021. Study of The Effect of PEG-6000 Imposed Drought Stress on Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars Using Relative Water Content (RWC) and Proline Content Analysis. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*. 58 (1): 357-367.
- Arobaya, A. Y. S. 2022. Variasi Morfologi Bunga Anggrek Bulan Hybrida *Phalaenopsis amabilis*: Analisa Karakter dengan Pendekatan Numerik. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 70–85.
- Ashari, A. Nurcahyani, E., Qudus H. I., dan Zulkifli. 2018. Analisis Kandungan Prolin Planlet Jeruk Keprok Batu 55 (*Citrus Reticulata Blanco* var. *crenatifolia*) Setelah Diinduksi Larutan Atonik Dalam Kondisi Cekaman Kekeringan Secara *In Vitro*. *Jurnal Analit*. 11. 69-78.

- Azzeme, A.M., Abdullah, S.N.A., Aziz, M. A., and Wahab, P. E. M. 2016. Oil palm leaves and roots differ in physiological response, antioxidant enzyme activities and expression of stress-responsive genes upon exposure to drought stress. *Acta Physiol Plant.* 38(52): 1-12.
- Bangar, P., Chaudhury, B. A., Tiwari, B., and Kumar, S. 2019. Morphological and Biochemical Response of Mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) Varieties at Different Developmental Stages Under Drought Stress. *Turkish Journal of Biology.* 43: 58-69.
- Barcaccia, G., Lucchin, M., and Cassandro, M. 2016. DNA barcoding as a molecular tool to track down mislabeling and food piracy. *Diversity.* 8(2): 1–16.
- Bardakci, F. 2001. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Turkish Journal of Biology.* 25(2): 185-196.
- Bartlett, J. M. S., and Stirling, D. 2003. *Methods in Molecular Biology: PCR Protocols.* Humana Press.
- Bidabadi, S. S. Mahmood, M., Baninasah, B. and Ghobad, C. 2015. Influence of Salicylic Acid on Morphological and Physiological Responses of Banana (*Musa acuminata* cv. Berangan, AAA) Shoot Tips to In Vitro water Stress Induced by Polyethylene Glycol. *Plant Omics Journal.* 5(1) : 33-39.
- BPS. 2023. *Produksi Tanaman Anggrek.* BPS. Jakarta.
- Brandolini, M., Corbella, M., Cambieri, P., Barbarini, D., Sassera, D., Stronati, M., and Marone, P. 2014. Late-onset neonatal group B streptococcal disease associated with breast milk transmission: Molecular typing using RAPD-PCR. *Early Human Development.* 90: 84–86.
- Burhan, B. 2017. Pengaruh Jenis Pupuk Dan Konsentrasi Benzyladenin (BA) Terhadap Pertumbuhan dan Pembungaan Anggrek *Dendrobium* hibrida. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan.* 16(3): 194-204.
- Carson, S., Miller, H. B., Witherow, D. S., and Srougi, M. C. 2019. *Molecular Biology Techniques: A Classroom Laboratory Manual.* Elsevier Inc.
- Croft, H and Chen, J.M. 2018. Leaf Pigment Content. In S. Liang (Ed.). *Comprehensive Remote Sensing.* Elsevier. 3, pp. 117–142.
- Cronquist, A. 1981. *An Intergrated System of Classification of Flowering Plants.* Columbia University Press. New York.
- Cui, C., Li, Y. L. Y., Liu, Y., Li, X., Luo, S., Zhang, Z. Wu, R., Liang, G., Sun, J., Peng, J., and Tian, P. 2017. Determination of genetic diversity among

- Saccharina germplasm using ISSR and RAPD markers. *Comptes Rendus Biologies*. 340(2): 76–86.
- Dalal, V. K., and Tripathy, B. C. 2012. Modulation of chlorophyll biosynthesis by water stress in rice seedlings during chloroplast biogenesis. *Plant, Cell and Environment*: 1–19.
- Dama, H., Aisyah, S. I., Sudarsono., dan Dewi, A. K. 2020. Respon Kerapatan Stomata dan Kandungan Klorofil Padi (*Oryza sativa* L.) Mutan Terhadap Toleransi Kekeringan. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*. 16 (1): 1-6.
- Dehgahi, R., Latiffah, Z., Azhar, M., Alireza, J., and Sreeramanan, S. 2015. Effects of Fusaric Acid Treatment on The Protocorm-like Bodies of *Dendrobium sonia*-28. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture*. 253(5): 1373–1383.
- Dehgahi, R., Subramaniam, S., Zakaria, L., Joniyas, A., Firouzjahi, F.B., Haghnama, K., and Razinataj, M. 2016. Review of Research on Fungal Pathogen Attack and Plant Defense Mechanism against Pathogen. *International Journal of Scientific Research in Agricultural Sciences*. 2(8): 197-208.
- Djufri, D., Hasanuddin, H., dan Fauzi, F. (2015). Orchidaceae Pulau Rubiah Kota Madya Sabang Provinsi Aceh. *Jurnal Biotik*, 3(1), 1–8.
- Doyle, J.J. and Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12 : 13-15.
- Du. Y., Zhao, Q., Chen, L., Yao, X., Zhang. H., Wu. J., and Xie, F. 2020. Effect of Drought Stress during Soybean R2–R6 Growth Stages on Sucrose Metabolism in Leaf and Seed. *International Journal of Molecular Science*. 21(168): 1-19.
- Dziedziński, M., Kobus-Cisowska J., and Stachowiak B. 2021. Pinus species as prospective reserves of bioactive compounds with potential use in functional food—Current state of knowledge. *Plants*. 10:1306.
- El Sheikha, A. F., Levin, R., and Xu, J. 2018. *Molecular Techniques in Food Biology: Safety, Biotechnology, Authenticity, and Traceability*. John Wiley and Sons, Inc.
- Embiale, A., Hussein, M., Husen, A., Sahile, S., and Mohammed, K. 2016. Differential sensitivity of *Pisum sativum* L. Cultivars to water-deficit stress: changes in growth, water status, chlorophyll fluorescence and gas exchange attributes. *Journal of Agronomy*. 15(2): 45-57.
- Erfa, L., Maulida, D., Sesanti, R. N., dan Yuriansyah, Y. 2020. Keberhasilan aklimatisasi dan pembesaran bibit kompot anggrek bulan (*Phalaenopsis*) pada

- beberapa kombinasi media tanam. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 19(2), 122.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., and Basra, S. M. A. 2009. Plant Drought Stress: Effect, Mechanisme and Management. *Agronomy for Sustainable Development*. 29, 185-212.
- Fauziah, N., Azis, S.A., dan Sukma, D. 2014. Karakterisasi Morfologi Anggrek *Phalaenopsis* sp. Spesies Asli Indonesia . *Agronomi Holtikultura*. 2(1): 86-94.
- Fernandez, G. C. J. 1992. Effective Selection Criteria for Assessing Stress Tolerance. *Proceeding of International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops in Temperature and Water Stress*. 256- 270.
- Feriza, Y., Nurcahyani, E., Wahyuningsih, S., dan Yulianty. 2022. Pengaruh *Polyethylene Glycol* (PEG) 6000 Terhadap Karakter Ekspresi Spesifik Planlet Anggrek *Dendrobium* sp. Secara *In Vitro*. *Jurnal Analytical and Environmental Chemistr*. 7: 2.
- Garri, A. N., Handayani, T.T., Zulkifli dan Wahyuningsih, S. 2020. The Effect of *Polyethylene Glycol* (PEG) on Green Mustard (*Brassica juncea* L.) Germination and Growth. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*. 7: 1-8.
- Ganie, S. H., Upadhyay, P., Das, S., and Sharma, M. P. 2015. Authentication of medicinal plants by DNA markers. *Plant Gene*. 4: 83–99.
- Gharoobi, B. M., Ghorbani, and Ghasemi, M. N. 2012. Effects of different levels of osmotic potential on germination percentage and germination rate of barley, corn and canola Iranian. *Journal of Plant Physiology*. 2 (2): 413- 417.
- Goche, T., Shargie, N. G., Cummins, I., Brown, A. P., Chivasa, S., and Ngara, R. 2020. Comparative physiological and root proteome analyses of two sorghum varieties responding to water limitation. *Scientific Reports*. 10: 1–18.
- Grudzinska, M., Mankowswaka, B. D., and Zarznyska, K. 2021. Drought Stress During the Growing Season: Changes in Reducing Sugars, Starch Content and Respiration Rate During Storage of Two Potato Cultivars Differing in Drought Sensitivity. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 1(1): 1-6.
- Gusmiaty, G., Sari, N. A., Safira, T. N., Budiman, A., dan Larekekng, S. H. 2021. Polimorfisme Penanda RAPD Untuk Analisis Keragaman Genetik Kemiri (*Aleurites mollucana*) di Kabupaten Maros. *Bioma: Jurnal Biologi Makasar*. 6(1): 23-30.
- Hamouda, M. 2019. Molecular analysis of genetic diversity in population of *Silybum marianum* (L.) Gaertn in Egypt. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 6(12): 1–9.

- Hailemichael, G., Catalina, A., González, M.R., and Martin, P. 2016. Relationships Between Water Status, Leaf Chlorophyll Content and Photosynthetic Performance in Tempranillo Vineyards. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 37(2): 149-156.
- Hartati, S., Tarina, L., Yulia, E., Yunus, A., and Djoar, D. W. 2014. Genetic Diversity of Orchid *Coelogyne* spp. by Molecular RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) Markers. *International Journal of Applied Agricultural Research.* 9(2) : 147- 154.
- Hapsari, B. W., Martin, A. F., Rudiyanto, R., dan Ermayanti, T. M. 2018. Perlakuan *Polyethylene Glycol* Secara *in Vitro* Terhadap Pertumbuhan Tunas Mutan Taka Untuk Seleksi Toleran Kekeringan. *Prosiding SEMNASTAN.* 262-271.
- Hashimoto, H., Uragami, C and Cogdell, R.J. 2016. Carotenoids in Nature. In C. Stange (Ed.) *Carotenoids in nature: biosynthesis, regulation and function. Subcellular Biochemistry.* 79, pp. 111– 139.
- Huang, H., Ullah, F., Zhou, D. X., Yi, Ming, and Zhou, Y. 2019. Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in Plant Science.* 10, 800.
- Ilmawan, E., Subaedah, S., dan Takdir, A. 2018. Analisis Keragaman Genetik Jagung Toleran Cekaman Kekeringan di Lahan Sawah Tadah Hujan. *Jurnal Agrotek.* 2 (2): 39-41.
- Ilyani, D. S., Suliansyah, I., dan Dwipa, I. 2017. Pengujian resistensi kekeringan terhadap beberapa genotipe padi beras merah (*Oryza sativa* L.) lokal Sumatera Barat pada fase vegetatif. *Jaguar: Jurnal Agroteknologi.* 1(1):6-14.
- Inanc, A. L. 2011. Chlorophyll: Structural Properties, Health Benefits and Its Occurrence in Virgin Olive Oils. *Akademik Gida.* 9(2): 26-32.
- Jamaludin dan Ranchiano, M. G. 2021. Pertumbuhan Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia*) dalam Polybag pada Beberapa Kombinasi Media Tanam dan Frekuensi Penyiraman Menggunakan Teknologi Irigasi Tetes. *Agro Industri Perkebunan.* 9(2): 65–72.
- Jamil, M., Nurcahyani. E., dan Zulkifli, Z. 2015. Kandungan Klorofil Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Hasil Seleksi Ketahanan terhadap Cekaman Kekeringan secara *In Vitro*. *Pros Seminar Nasional Pengembangan Teknologi Pertanian.* 2015:68–72.
- Jonah, P. M., Bello, L. L., Lucky, O., Midau, A., and Moruppa, S.M. 2011. Review: The importance of molecular markers in plant breeding programmes. *Global Journal of Science Frontier Research.* 11(5): 5–12.

- Khan, J., Rauf, M., Ali, Z., Rashid, H., and Khattack, M. S. 2012. Different stratification techniques on seed germination of pistachio. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2, 1412-1414.
- Khoo, H.E., Azlan, A., Tang, S.T and Lim, S.M. 2017. Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients and the potential health benefits. *Food and Nutrition Research*. 61(1): 0–21.
- Langga, I. F., Restu, M. dan Kuswinanti, T. 2012. Optimalisasi Suhu dan Lama Inkubasi Dalam Ekstraksi DNA Tanaman Bitti (*Vitex cofassus* Reinw) serta Analisis Keragaman Genetik dengan Teknik RAPD-PCR. *J Sains dan Teknologi*. 12 (3) : 265-276.
- Latifah, R., Suhermiatin, T., dan Ermawati, N. 2017. Optimasi Pertumbuhan Plantlet *Cattleya* Melalui Kombinasi Kekuatan Media Murashige-Skoog dan Bahan Organik. *Agriprima : Journal of Applied Agricultural Sciences*, 1(1), 59–62.
- Larekeng, S. H., Maskromo, I., Purwito, A., Matjik, N. A., and Sudarsono, S. 2015. Pollen dispersal and pollination patterns studies in Pati kopyor coconut using molecular markers. *Cord*. 31(1): 46–60.
- Lehninger, A. L. 1982. Dasar-Dasar Biokimia (Edisi 1.). Erlangga. Jakarta.
- Liu, H.D., Pan, L.L., Zhou, X., Wan, N., Wu, Y. F., and Li, B. 2022. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of alkaloids in Orchidaceae plants. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*. 50(3):731–744.
- Lopez, R., E. Runkle, Y.T. Wang, M. Blanchard, and T. Hsu. 2007. Growing the best *Phalaenopsis*: Temperature and light requirements, height, insect and disease control. *Culture Corner*. 56(4). 182-187.
- Maizakusuma, F. A., Rosyidah, A., dan Muslikah, S. 2023. Respon pertumbuhan *Phalaenopsis* terhadap perbedaan media tanam dan pemberian pupuk Gandasil D. *Jurnal Agronisma*. 11(2): 71–79.
- Martínez, V. J., and Garcia, F. N. 2017. Water potential regulation, stomatal behaviour and hydraulic transport under drought: Deconstructing the iso/anisohydric concept. *Plant, Cell & Environment*. 40: 962–976.
- Miazek, M. 2002. Krystian Chlorophyl Extraction From Harvested Plant Material. *Supervisor*. Prof. Dr. Ha. Inz Stanislaw Ledakwicz.
- Mirbahar, A. A., R. Saeed, G.S., and Markhand. 2013. Effect of polyethylene glycol- 6000 on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination . *Int. J. Biol. Biotech*. 10:401-405.

- Moctava, M. A., Koesriharti, dan DawamX, M. 2013. Respon Tiga Varietas Sawi (*Brassica rapa* L.) terhadap Cekaman Air. *Jurnal Produksi Tanaman*. 1(2): 90-98.
- Mohammadkhani, N. and Heidari, R. 2008. Drought-induced Accumulation of Soluble Sugars and Proline in Two Maize Varieties. *World Applied Sciences Journal*. 3(3): 448-453.
- Mudhor, M. A., Dewanti, P., Handoyo, T., dan Ratnasari, T. 2022. Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Padi Hitam Varietas Jeliteng. *Jurnal Agrikultura*. 33 (3): 247-256.
- Nadeem, M. A., Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M. and Baloch, F. S. 2018. DNA Molecular Markers in Plant Breeding: Current Status and Recent Advancements in Genomic Selection and Genome Editing. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 32 (2) : 261-285.
- Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry*. 153(2): 375–379.
- Nio, S. A., Pirade, M., and Ludong, D. P. M. 2019. Leaf chlorophyll content In North Sulawesi (Indonesia) local rice cultivars subjected to polyethylene glycol (peg) 8000-induced water deficit at the vegetative phase. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(9), 2462-2467.
- Nunes, A., Azevedo, G. Z., dos Santos, B. R., Lima, G. P. P., Moura, S., and Maraschin, M. 2024. Application of UV–vis spectrophotometry and chemometrics to investigate adulteration by glucose syrup in Brazilian polyfloral honey. *Food and Humanity*. 2: 100194.
- Nuradha, I. T., Yustiati, A., Handaka, A. A., and Bangkit, I. 2021. Genetic relationship of four strains of guppy (*Poecilia reticulata* Peters, 1859) using RAPD-PCR method. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, 7(4), 15–24.
- Nurcahyani, E., Sumardi, I., Hadisutrisno, B., and Suharyanto, E. 2017. DNA pattern analysis of *Vanilla planifolia* Andrews plantlet which resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*, 3(4), 27–34
- Nurcahyani, E., Irawan, B., Sumardi, Sari, E, and Sari, T. 2019a. Analisis Pola DNA Planlet Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) Hasil Induced Resistance Terhadap *Fusarium Oxysporum*. *Journal of Tropical Upland Resources*. 1(1): 93–100.

- Nurcahyani, E., Mutmainah N. A., Farisi S., dan Agustrina R. 2019b. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Menggunakan Metode Fenol-Sulfur Secara *In Vitro*. *Jurnal Analit.* 4(1): 73-80.
- Nurcahyani, E., Sazilly, M. R., Farisi, S., dan Agustrina, R. 2019c. Efek inokulasi *Rhizoctonia solanii* terhadap kandungan karbohidrat terlarut total planlet kacang panjang [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] secara *in vitro*. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry.* 4(1): 81–90.
- Nurcahyani, E., Sumardi, Qudus, H.I., Wahyuningsih, S., Palupi, A. and Sholekhah. 2019d. Analysis of Chlorophyll *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume. Results of the Resistance to *Fusarium oxysporum* and Drought Stress. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS).* 12(11): 41-46.
- Nurcahyani, E., Alfiah, D., Wahyuningsih, S., dan Mahfut. 2020a. 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.
- Nurcahyani, E., Sumardi, Qudus, H.I., Wahyuningsih, S., Sholekhah, and Palupi, A. 2020b. In Vitro Selection *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl. Plantlets Result of Induced Resistance With Fusaric Acid. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences. WJPLS.* 6 (2): 25-28.
- Nurcahyani, E., Qudus, H. I and Evlin, F. 2021. Analysis of the Reducing Sugar of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) Mutant Plantlets Resistant to Fusarium Wilt. *AIP Conference Proceedings.* 2331(050010): 1-4.
- Nurcahyani E. 2022. Varietas Unggul Vanili Tahan Busuk Batang Berbasis Teknik Molekular dan *Induceed Resistance*. *Plantaxia.* Bandar Lampung. 68 hlm.
- Nurcahyani, E., Sabatini, A. P., Yuliyanty, dan Agustrina, R. 2022. Respon Tunas Anggrek *Cattleya* sp. Hasil Seleksi *in Vitro* terhadap Cekaman Kekeringan dengan Polietilenglikol (PEG) 6000. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity,* 6(2), 61-67.
- Nurcahyani, E., Qudus, H., Afifah, A., Amini, N., Bambang I., Wahyuningsih., S., and Diky H. 2024. Characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) resistant to drought stress as a result of selection using PEG 6000. *Biological and Pharmaceutical Sciences (GSC).* 27 (02): 110-119.
- Okunlola, G. O., Olatunji, O. A., Obisesan, I. A., Olowolaju, E. D., Ogunkunle, C. O., and Rufai, A. B. 2022. Foliar application of hydrogen peroxide (H₂O₂) modulates growth, inorganic ion and osmolyte accumulation of soybean (*Glycine max*) cultivars under drought stress. *South African Journal of Botany.* 151: 425–432.

- Paletri, T. S., Nurcahyani, E., Yulianty, Y., dan Agustrina, R. 2019. Stomata Index of *Catteleya* sp. Lindl., Planlet in Drought-Stress Conditions. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*. 6 (1) : 15-19.
- Panal, C.L.T., Opiso, J.G and Opiso, G. 2015. Conservation status of the family Orchidaceae in Mt. Sinola, Arakan, North Cotabato, Philippines. *Biodiversitas*. 16(2): 213-224.
- Piper, F.I., Fajardo, A., and Hoch G. 2017. Single-Provenance Mature Conifers Show Higher Non-Structural Carbohydrate Storage and Reduced Growth in a Drier Location. *Tree Physiol*, 37(8): 1001–1010.
- Pujiati, C. dan Novi, P. 2016. Analisis Kadar Gula Reduksi pada Fermentasi Kacang Gude (*Cajanus cajan*) oleh *Aspergillus niger*. *Proceeding Biology Education Conference*. 13(1): 832-835.
- Purwanto dan T. Agustono. 2010. Kajian Fisiologi Tanaman Kedelai Pada Kondisi Cekaman Kekeringan dan Berbagai Kepadatan Gulma Teki. *Jurnal Agrosains*. 12(1): 24-28.
- Putri, F. Y., Nurcahyani, E., Wahyuningsih, S., dan Yulianty, Y. 2022. Pengaruh *Polyethylene Glycol* (PEG) 6000 terhadap Karakter Ekspresi Spesifik Tunas Anggrek *Dendrobium* sp. secara *in Vitro*. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*. 7(02): 122-131.
- Rahayu, E. S., Guhardja, E., Ilyas. S., dan Sudarsono. 2005. *Polietilena Glikol (PEG) Dalam Media In Vitro Menyebabkan Kondisi Cekaman Yang Menghambat Tunas Kacang Tanah (Arachis hypogeal L.)*. Berk. Penel. Hayati. 11, 39-48.
- Riduan, A., Aswidinnoor, H., Koswara, J., dan Sudarsono. 2015. Toleransi Sejumlah Kultivar Kacang Tanah terhadap Cekaman Kekeringan. *Hayati*. 12(1): 28-34.
- Ristvey, A. G., Belayneh, B. E., and Lea-Cox, J. D. 2019. A comparison of irrigation-water containment methods and management strategies between two ornamental production systems to minimize water security threats. *Water*. 11(12).
- Rohman, A. 2013. *Analisis Komponen Makanan*. Graha Ilmu. Yogyakarta. 214 hlm.
- Rowe, R.C., Sheskey, P., and Quinn, M. E., 2009. *Handbook of pharmaceutical Exipients*, 6th edition. London: pharmaceutical press, 697- 755.
- Rukamana, H.R. 2008. *Budi Daya Anggrek Bulan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.

- Sambrook, J., Fritsch, E. R., and Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2nd Edition*. Cold Spring Harbor Laboratory . New York. pp. 323-358.
- Salisbury, F. B. and Ros, C.W. 1992. *Plant Physiology*. Wadsworth Publ. Co, USA. 432p.
- 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*. ISBN 978-602-70530-2-1: 16-24.
- Sasmitha, L. V., Yustiantara, P. S., Yowani, S. C., MDR-TB, K. S., dan Jimbaran, B. 2018. Desain DNA Primer secara in silico sebagai Pendeteksi Mutasi Gen *gyrA Mycobacterium tuberculosis* untuk Metode Polymerase Chain Reaction. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. 8(1): 63-69.
- Sasamito, D. E. K., Kurniawan, R. dan Muhimmah, I. 2014. Karakteristik Primer Pada *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Untuk Sekuensing DNA: Mini Review. *Seminar Informatika Medis*. 93–102.
- Sastrosupadi, A. 2000. *Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian*. Kanisius. Malang.
- Selaocoe, M. E., Adebola, P., Pillay, M., and Laurie, S.M. 2019. Genetic diversity of South African sweetpotato germplasm using molecular markers. *Journal of Crop Improvement*. 33:814-823.
- Shehadul, I. M., Aryasomayajula, A., and Selvaganapathy, P. R. 2017. A Review on Macroscale and Microscale Cell Lysis Method. *Micromachine*. 8 (3): 83.
- Sihotang, S., Prasetyo, D., Noer, Z., Setiyabudi, L., Sari, D. N., Munaeni, W. dan Rohmah, M. K. 2022. *Pengantar Bioteknologi*. CV. Tohar Media. Makassar.
- Singh, M. K., Singh, N. B., Takur, S., and Naik, P. K. 2014. Molecular evaluations of thirty-one clones of poplar based on RAPD and SSR molecular markers. *Genetika*. 46(3): 985–1001.
- Sujinah dan Ali, J. 2016. Mekanisme respon tanaman padi terhadap cekaman kekeringan dan varietas toleran. *Iptek Tanaman Pangan*. 11: 1–8.
- Suharti, Gusmalawati, dan Mukarlina, D. 2017. Struktur anatomi akar, batang dan daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) yang mengalami cekaman kekeringan. *Jurnal Protobiont*. 6(2): 38-44.

- Tini, E.W., Sulistyanto, P dan Sumartono, G.H. 2019. Aklimatisasi Anggrek (*Phalaenopsis amabilis*) dengan Media Tanam yang Berbeda dan Pemberian Pupuk Daun. *Jurnal Hortikultura Indonesia*. 10(2): 119-127.
- Tripathi, N., Chouhan, D. S., Saini, N., and Tiwari, S. 2012. Assessment of genetic variations among highly endangered medicinal plant *Bacopa monnieri* (L.) from Central India using RAPD and ISSR analysis. *3 Biotech*. 2: 327–336.
- Wibawati, Z., Sarungallo, A., dan Abbas, B. 2020. Pertumbuhan Anggrek *Grammatophyllum scriptum* Asal Kultur In Vitro Pada Berbagai Macam Formulasi Media Tumbuh Berbasis Ampas Sagu. *Cassowary*, 3(2), 91-100.
- Widyastuti, Y., Purwoko, B. S., dan M. Yunus. 2016. Identifikasi toleransi kekeringan tetua padi hibrida pada fase perkecambahan menggunakan polietilen glikol (PEG) 6000. *J. Agron. Indonesia*. 44:235-241.
- William, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*. 18: 6531–6535.
- Wilson, K., and Walker, J. 2022. Principles Techniques of Biochemistry and Molecular Biology. Cambridge University Press.
- Wintermans, J. F. G. M., and De Mots, W. 1965. Spectrophotometric characteristics of chlorophyll a and b and their pheophytin in ethanol. *Biochimica et Biophysica Acta*. 109: 448–453.
- Yasmin, Z. F., Aisiyah S. I., dan Sukma, D. 2018. Pembibitan (Kultur Jaringan hingga Pembesaran) Anggrek *Phalaenopsis* di Hassanudin Orchids, Jawa Timur. *Bul Agrohort*. 6(3), 430-439
- Zhang, S., Yang, Y., Li, J., Qin, J., Zhang, W., Huang, W., and Hu, H. 2018. Physiological Diversity of Orchids. *Plant Diversity*. 40: 196-208.
- Zakiah, M., Manurung, F., dan Wulandari, R. S. 2018. Kandungan klorofil daun pada empat jenis pohon di Arboretum Sylva Indonesia Pc. Universitas Tanjungpura. *Jurnal Hutan Lestari* 6(1): 48–55.
- Zanella, M., Borghi, G. L., Pirone, C., Thalmann, M., Pazmino, D., Costa, A., Santelia, D., Trost, P., and Sparla, F. 2016. β -amylase 1 (BAM1) degrades transitory starch to sustain proline biosynthesis during drought stress. *Journal of Experimental Botany*. 67: 1819–1826