

**ANALISIS KANDUNGAN KLOOROFIL PLANLET ANGGREK BULAN
[*Phalaenopsis amabilis* (L.) BL.] HASIL INDUKSI LARUTAN ATONIK
DAN *POLY ETHYLENE GLYCOL* (PEG) 6000 SECARA *IN VITRO***

Putri Wahyuni¹⁾, Endang Nurcahyani²⁾, Zulkifli¹⁾, Mahfut²⁾

¹⁾Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung

²⁾Program Studi Biologi Terapan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung
Jalan Prof. Dr. Soemantri Brodjonegoro No.1 Bandar Lampung 35145

endang.nurcahyani@fmipa.unila.ac.id

ABSTRAK

Anggrek Bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) BL.] salah satu jenis anggrek yang banyak digemari oleh berbagai kalangan, selain memiliki keindahan bentuk dan warna bunganya anggrek bulan juga memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Kendala dalam pembudidayaan *P.amabilis* ini adalah ketersediaan air yang kurang dan kelembapan yang rendah. Penambahan zat pengatur tumbuh atonik dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh interaksi antara larutan atonik dan PEG 6000 terhadap pertumbuhan, kandungan klorofil planlet *P. amabilis*. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Oktober-Desember 2019 di Ruang Penelitian *In Vitro*, Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) yang terdiri dari dua faktor yaitu larutan atonik dengan 3 taraf konsentrasi: 0 ml/l; 2 ml/l; 3 ml/l dan PEG 6000 dengan 2 taraf konsentrasi: 0%; dan 25%, dengan masing-masing konsentrasi dilakukan 4 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 2 planlet *P. amabilis*. Homogenitas ragam diuji menggunakan uji Levene dilanjutkan dengan Uji *Two Way Factorial* Anova pada taraf nyata 5% dan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan interaksi antara PEG 6000 konsentrasi 25% dan atonik konsentrasi 2 ml/l dapat meningkatkan kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total.

Kata kunci : Atonik, *In Vitro*, Klorofil, *Phalaenopsis amabilis*, *Poly Ethylene Glycol* 6000.

ABSTRACT

Moon Orchid [*Phalaenopsis amabilis* (L.) BL.] One type of orchid that is favored by various groups, besides having the beauty of the shape and color of the flower, the moon orchid also has high economic value. The constraints in the cultivation of *P. amabilis* are the

availability of less water and low humidity. The addition of atonic plant growth regulators can increase plant growth. This study aims to determine the effect of the interaction between the atonic solution and PEG 6000 on the growth, chlorophyll content of *P. amabilis*. This research was conducted in October-December 2019 in the *In Vitro* Research Room, Botany Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung. This study uses a Factorial Complete Randomized Design (RALF) consisting of two factors, namely atonic solutions with 3 concentrations: 0 ml/l; 2 ml/l; 3 ml/l and PEG 6000 with 2 levels of concentration: 0%; 25%, with each concentration carried out 4 replications and each repetition consisted of 2 *P. amabilis* planlets. Homogeneity of variance was tested using the Levene test followed by the Two Way Factorial Anova Test at 5% significance level and the BNJ follow-up test at 5% significance level. The results showed the interaction between PEG 6000 concentration of 25% and atonic concentration of 2 ml/l can increase the content of chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll.

Keywords: Atonic, *In Vitro*, Chlorophyll, *Phalaenopsis amabilis*, Poly Ethylene Glycol 6000.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang terkenal kaya akan fauna dan floranya salah satunya yaitu tanaman anggrek, anggrek termasuk tumbuhan Orchidaceae, familia ini diperkirakan 5.000 spesies tersebar di Indonesia dan terdapat 25.000-30.000 spesies di dunia (Kasutjianingati dan Irawan, 2013; Nikmah *et al.*, 2017). Salah satu tanaman anggrek yang populer adalah anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) merupakan spesies pertama dalam genus *Phalaenopsis* yang ditemukan oleh Dr. C. L. Blume. Sangat populer dengan keragaman dan keindahan bunganya, memiliki nilai ekonomi yang tinggi, juga dapat digunakan sebagai koleksi, bunga potong, sebagai induk persilangan, penghias ruangan dan taman (Lin dan Hsu, 2004).

Faktor utama penyebab kematian adalah cekaman kekeringan, terjadinya kekeringan pada tanaman anggrek di pengaruhi oleh kelembapan yang rendah dan ketersediaan air yang kurang, hal tersebut bisa memicu stress pada tanaman anggrek (Hendaryono, 2000). Seleksi *in vitro* menghasilkan jenis tanaman yang cukup efektif untuk menduga adanya toleran terhadap kekeringan, salah satunya pada tanaman padi hibrida hasil persilangan yang

menggunakan PEG 6000 dengan konsentrasi 25% cukup efektif untuk menduga toleransi terhadap kekeringan (Afa *et al.*, 2012).

Defisit air dapat mempengaruhi perubahan fungsi metabolisme, terutama dapat mengurangi sintesis klorofil. Penurunan konsentrasi klorofil daun merupakan salah satu respon fisiologi tanaman akibat kekurangan air yang menyebabkan penghambatan pembentukan klorofil, penghambatan nutrisi, terutama pada hormon nitrogen dan magnesium yang berperan penting dalam sintesis klorofil (Nurchayani *et al.*, 2019).

Salah satu upaya untuk meningkatkan produktivitas *P. amabilis* yaitu dengan dilakukannya pemberian Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) (Septiatin, 2008). Zat Pengatur Tumbuh yang bisa digunakan yaitu atonik. Atonik merupakan zat perangsang tumbuhnya akar, meningkatkan keluarnya kuncup dan buah, mengaktifkan penyerapan unsur hara, serta dapat memperbaiki kualitas tanaman (Sumiati, 2001).

Salah satu alternatif yang efektif untuk mengatasi cekaman kekeringan pada tanaman yaitu dengan menggunakan varietas yang tahan terhadap cekaman kekeringan (Nurchayani *et al.*, 2019). Cara mendapatkan bibit yang tahan terhadap kekeringan dapat dilakukan dengan menggunakan teknik *In Vitro*. Seleksi cekaman kekeringan pada teknik *In Vitro* dapat dilakukan dengan cara pemberian agen penyeleksi ke dalam medium tanam (Muliani *et al.*, 2014).

Sejauh ini belum banyak yang bisa dilakukan oleh penelitian untuk mendapatkan planlet *P. amabilis* yang tahan terhadap cekaman kekeringan setelah diinduksi larutan atonik secara *In Vitro*, oleh karena itu penelitian ini perlu untuk dilakukan.

METODE

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF) merk *Esco*, meja kerja steril, autoklaf, pinset, kertas filter, cawan petri, Erlenmeyer berukuran 50 ml, botol kultur 250 ml, gelas ukur bervolume 100 ml dan 500 ml, mikropipet, pipet tip, tabung reaksi, spektrofotometer, aluminium foil, rak tabung reaksi, mortar,

timbangan analitik, labu takar, oven, batang pengaduk, Ph meter, Bunsen, mortal dan penumbuk, tisu, masker, sarung tangan, labu ukur dan kamera.

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah planlet anggrek *P. amabilis* steril, alkohol 70% dan 96% untuk sterilisasi alat dan bahan, akuades, larutan atonik, *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000, bahan dasar *Vacin and Went* (VW) media yang digunakan untuk penanaman eksplan, sukrosa, Kalium Hidroksida (KOH), Asam Chlorida (HCL), arang aktif, agar, larutan stok organik yaitu sukrosa, asam amino, vitamin, detergen dan baycline digunakan untuk sterilisasi eksplan.

PROSEDUR

Medium tanam yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium *Vacin dan Went* (VW) padat. Pembuatan medium tanam VW sebanyak 1 liter dengan cara memipet sejumlah larutan stok, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 1 liter. Akuades ditambahkan sampai tanda 1 liter dan diatur pada pH 5,5, menambahkan KOH 1N jika terlalu asam dan HCL 1N jika terlalu basa. Larutan dipindahkan ke dalam wadah yang lebih besar kemudian ditambahkan agar-agar 7 g/l, sukrosa 30 g/l. Larutan medium dipanaskan sambil diaduk sampai mendidih. Penambahan ZPT dilakukan setelah larutan medium diangkat dari pemanas. Larutan medium dituangkan ke dalam 24 botol kultur sebanyak 20 ml/botol, kemudian tutup menggunakan aluminium foil, lalu sterilisasi medium dilakukan dalam autoklaf pada tekanan 17,5 psi dan suhu 121°C selama 15 menit.

Medium seleksi *Vacin and went* (VW) padat ditambahkan dengan *Poly ethylene Glycol* (PEG) 6000 sesuai dengan konsentrasi yaitu 0% dan 25%. Sebelum digunakan, PEG yang telah dilarutkan kemudian disaring menggunakan *syringe filter* berdiameter 0,45 µm sebanyak 2 kali dan berdiameter 0,22 µm satu kali, penyaringan dilakukan dalam ruang steril di dalam LAF Cabinet. Selanjutnya PEG ditambahkan ke dalam medium VW yang telah disterilisasi menggunakan autoklaf. Sebelum digunakan, medium diinkubasi selama 7 hari jika tidak terjadi kontaminasi pada medium, maka medium dapat digunakan.

Larutan atonik dilarutkan terlebih dahulu dengan akuades pada konsentrasi tertentu disaring menggunakan *syringe filter*. Penyaringan dilakukan dalam ruang steril di dalam LAF

Cabinet, kemudian larutan atonik diencerkan dengan 3 konsentrasi yaitu 0 ml/l; 2 ml/l; dan 3 ml/l. Larutan atonik kemudian digunakan untuk merendam planlet *P. amabilis* selama 3 menit.

Planlet *P. amabilis* yang telah diinduksi larutan atonik ditanam pada masing-masing botol kultur yang berisi medium *Vacin and Went* (VW) yang telah mengandung *Polyethylene Glycol* (PEG) 6000. Masing-masing perlakuan sebanyak 4 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 2 planlet dalam setiap botol kultur. Planlet *P. amabilis* diinkubasi pada ruangan dengan penyiaran sekitar 1000 lux, 24 jam/hari dan suhu sekitar 20⁰C.

Bahan yang digunakan untuk analisis klorofil yaitu daun planlet *P. amabilis* yang telah diinduksi atonik dan diseleksi dengan PEG 6000 mengikuti metode Miazek (2002) dengan menggunakan spektrofotometer. Daun planlet *P. amabilis* sebanyak 0,1 gram, digerus 100% dengan *pestle* dalam *mortar* kemudian 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 (ethanol 96%) diambil sebanyak 1 mL, dimasukkan dalam kuvet. Pembacaan serapan sampel dalam kuvet dilakukan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang (λ) 648 nm dan 664 nm. Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Klorofil total} = 15,24 \lambda_{664} + 22,24 \lambda_{648} \text{ mg/L } \left(\frac{v}{w \times 1000} \right)$$

$$\text{Klorofil a} = 13,36 \lambda_{664} - 5,19 \lambda_{648} \text{ mg/L } \left(\frac{v}{w \times 1000} \right)$$

$$\text{Klorofil b} = 27,43 \lambda_{648} - 8,12 \lambda_{664} \text{ mg/L } \left(\frac{v}{w \times 1000} \right)$$

Keterangan:

A₆₆₄ = absorbansi pada panjang gelombang 664 nm

A₆₄₈ = absorbansi pada panjang gelombang 648 nm

V = volume etanol

W = berat daun

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Klorofil

Analisis kandungan klorofil planlet *P. amabilis* dilakukan untuk mengetahui efek dari kombinasi pemberian larutan atonik dengan konsentrasi 0 ml/l; 2 ml/l; dan 3 ml/l dan PEG 6000 dengan konsentrasi 0%; dan 25%.

Li dkk., (2006) mengatakan bahwa pengaruh cekaman kekeringan terhadap pertumbuhan dan hasil produksi suatu tanaman menggunakan uji kandungan klorofil, karena salah satu faktor utama yang mempengaruhi fotosintesis adalah klorofil. Pengamatan dilakukan dengan melihat analisis kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total. Analisis kandungan klorofil menggunakan metode Miazek (2002) dengan menggunakan spektrofotometer.

Hasil dari uji kandungan klorofil planlet *P. amabilis* hasil seleksi larutan atonik dalam medium yang mengandung PEG 6000 dengan berbagai konsentrasi disajikan pada **Tabel 1**, **Tabel 2**, dan **Tabel 3**.

1. Kandungan klorofil a

Kandungan klorofil a planlet *P. amabilis* yang diperoleh berdasarkan data pengamatan selama 3 minggu kemudian di homogenkan menggunakan uji levene pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa nilai ($P\text{-value} = 0,123846 > 0,05$) yang menyatakan data yang di dapatkan homogen. *Two Way Factorial* Anova pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa interaksinya berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil a pada planlet *P. amabilis* ($P\text{-value} = 0,0129 < 0,05$) sehingga dilakukan uji lanjut BNJ pada taraf 5%. Kandungan klorofil a planlet *P. amabilis* setelah perlakuan kombinasi larutan atonik dan PEG 6000 disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Kandungan klorofil a planlet *P. amabilis* 3 minggu setelah perlakuan kombinasi atonik dan PEG 6000.

Konsentrasi PEG (%)	Konsentrasi Atonik (mg/g jaringan)		
	0	2	3
0	1.215 ± 0.038 ^a	0.803 ± 0.112 ^a	0.798 ± 0.096 ^a
25	1.205 ± 0.121 ^a	1.360 ± 0.067 ^b	1.330 ± 0.045 ^b

Keterangan : HSD Cells 0,05 = 0,43

Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf nyata 5 %.

2. Kandungan Klorofil b

Klorofil b merupakan salah satu parameter yang berpengaruh pada metabolisme tumbuhan melalui proses fotosintesis. Kandungan klorofil b planlet *P. amabilis* yang diperoleh berdasarkan data pengamatan selama 3 minggu kemudian di homogenkan menggunakan uji levene pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa nilai (P-value = 0,412846 > 0,05) yang menyatakan data yang di dapatkan homogen. *Two Way Factorial Anova* pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa interaksinya sangat berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil b pada planlet *P. amabilis* (P-value = <.0001 < 0,05) sehingga dilakukan uji lanjut BNJ pada taraf 5%. Kandungan klorofil b planlet *P. amabilis* setelah perlakuan kombinasi larutan atonik dan PEG 6000 disajikan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Kandungan klorofil b planlet *P. amabilis* 3 minggu setelah perlakuan kombinasi atonik dan PEG 6000.

Konsentrasi PEG (%)	Konsentrasi Atonik (mg/g jaringan)		
	0	2	3
0	1.005 ± 0.043 ^a	0.397 ± 0.035 ^a	0.447 ± 0.057 ^a
25	0.930 ± 0.116 ^a	1.239 ± 0.063 ^b	1.200 ± 0.046 ^b

Keterangan : HSD : 0,05 = 0,33

angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

3. Kandungan Klorofil Total

Kandungan klorofil total yang diperoleh berdasarkan data pengamatan setelah pengamatan selama 3 minggu kemudian di homogenkan menggunakan uji levene pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa nilai ($P\text{-value} = 0,28086 > 0,05$) yang berarti data yang di dapatkan homogen. *Two Way Factorial* Anova pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa interaksinya sangat berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil b pada planlet *P. amabilis* ($P\text{-value} = <.0001 < 0,05$) sehingga dilakukan uji lanjut BNJ pada taraf 5%. Kandungan klorofil total planlet *P. amabilis* setelah perlakuan kombinasi konsentrasi larutan atonik dan PEG 6000 disajikan pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Kandungan klorofil total planlet *P. amabilis* 3 minggu setelah perlakuan kombinasi atonik dan PEG 6000.

Konsentrasi PEG (%)	Konsentrasi Atonik (mg/g jaringan)		
	0	2	3
0	1.126 ± 0.046^a	0.478 ± 0.034^a	0.527 ± 0.067^a
25	1.051 ± 0.126^a	1.375 ± 0.069^b	1.333 ± 0.050^b

Keterangan : HSD : $0,05 = 0,36$

Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5 %.

Klorofil merupakan zat hijau daun yang diperlukan dalam proses fotosintesis. Fotosintesis merupakan proses metabolisme mendasar tanaman untuk dapat beradaptasi pada kondisi cekaman kekeringan (Liu *et al.*, 2007). Berdasarkan hasil penelitian, kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total planlet *P. amabilis* yang diberi perlakuan PEG 6000 dengan konsentrasi 25% kandungan klorofilnya lebih tinggi dibandingkan dengan PEG dengan konsentrasi 0%. Berdasarkan penelitian sebelumnya Mensah *et al* (2006) menunjukkan bahwa kandungan klorofil meningkat pada kondisi cekaman kekeringan pada tanaman wijen dan hal ini menandakan kemampuannya untuk tetap mensintesis lebih banyak klorofil pada kondisi kekeringan, yang merupakan indikator yang baik untuk toleransi terhadap kekeringan.

Cekaman kekeringan juga bisa meningkatkan kandungan prolin, penelitian Ashari (2018) menunjukkan bahwa penambahan PEG 6000 dengan konsentrasi 4%. Berbanding

terbalik dengan penelitian (Nurchayani *et al.*, 2019a dan Nurchayani *et al.*, 2019b). kandungan karbohidrat terlarut total planlet kacang panjang dan planlet buncis tidak mengalami peningkatan pada kondisi cekaman kekeringan secara *in vitro*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa larutan atonik dengan konsentrasi yang tepat memiliki pengaruh yang baik untuk ketahanan planlet *P. amabilis*, sedangkan penambahan PEG 6000 yang toleran untuk pertumbuhan planlet *P. amabilis* pada konsentrasi 25%, hal ini menandakan bahwa planlet *P. amabilis* toleran terhadap cekaman kekeringan pada konsentrasi tersebut.

Pemberian larutan atonik 2 ml/l ternyata lebih optimum untuk kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total, hal ini disebabkan karena penggunaan konsentrasi atonik 3 ml/l dianggap kurang optimum yang menyebabkan menurunnya kandungan klorofil. Jika konsentrasi yang diberikan lebih tinggi dari konsentrasi optimum maka dapat mengakibatkan terganggunya proses metabolisme dan perkembangan tumbuhan. Riyadi (2014) menyatakan bahwa konsentrasi auksin yang tinggi menyebabkan proses perbesaran sel berlangsung cepat dan sel menjadi besar, keadaan seperti ini mengakibatkan reaksi turgor sel dalam sehingga permeabilitas terganggu dan sel akan mengalami kekeringan.

Kandungan klorofil yang tinggi sebagai respon planlet yang diinduksi larutan atonik pada bagian akar. Atonik sebagai zat pengatur tumbuh dapat mendorong pertumbuhan (pertambahan jumlah sel dan pertambahan volume sel) akar, sehingga penyerapan hara menjadi lebih efektif. Akar yang panjang pada planlet tercekam kekeringan akan memperluas jelajah akar untuk menyerap air serta unsur hara seperti nitrogen dan magnesium. Nitrogen dan magnesium berperan sebagai penyusun klorofil, yang mengendalikan kemampuan tanaman dalam melakukan fotosintesis (Setyanti *et al.*, 2013; Mardi *et al.*, 2016). Atonik termasuk golongan auksin. Pengaruh auksin terhadap perkembangan sel-sel menunjukkan indikasi bahwa auksin dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesis protein, permeabilitas sel terhadap air dan melunakkan dinding sel yang diikuti menurunnya tekanan dinding sel yang disertai dengan kenaikan volume sel, dengan adanya kenaikan sintesis protein, dapat digunakan sebagai sumber energi dalam pertumbuhan (Suprpto, 2004).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka didapatkan kesimpulan bahwa Interaksi antara PEG 6000 25% dan atonik 2 ml/l dapat meningkatkan kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total.

DAFTAR PUSTAKA

- Afa, L.D., Bambang S., Ahmad J., Oteng H., dan Iswari S., 2012. Pendugaan Toleransi Padi Hibrida Terhadap Kekeringan dengan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) 6000. *Jurnal Agrivigor* 11(2) : 292-299 ISSN 1412-2286. Hlm.292.
- Ashari, A., Nurcahyani, E., Qudus, H.I., Zulkifli. 2018. Analysis of Prolin Planlet Content of Tangerine 55 Stone (*Citrus reticulata* Blanco var. *crenatifolia*) After Induced by Atonic Solution in *In Vitro* Conditions of Drought Stress. *Analytical and Environmental Chemistry Journal*. 3 (01). 69-78. ISSN E-ISSN 2540-8267.
- Hendaryono, D.P.S. 2000. *Budidaya Anggrek Dalam Botol*. Kanisius Yogyakarta.
- Kasutjiani ngati dan Irawan, R. 2013. Media Alternative Perbanyak In-Vitro Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*). *Jurnal Agroteknos*. 3(3):184-189.
- Li, R.P.G., Baum, M., Grando, S., dan Ceccarelli, S. 2006. Evaluation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Barley. *Agricultural Sciences in China*. 5 (10):p.751-757.
- Lin, M.J. and Hsu, B.D. 2004. Photosynthetic plasticity of *Phalaenopsis amabilis* in response to different light environments. *Journal of Plant Physiology*. 161: 1259-1268.
- Liu, H.Y., Li, J.Y., Zhao, Y., and Huang, K.K. 2007. Influence of Drought Stress on Gas Exchange and Water Use Efficiency of *Salix psammophila* Growing in five places. *Arid. Zone. Res.* 24:815-820.
- Mardi, C.T., Setiadi, H., dan Lubis, K. 2016. Pengaruh Asal Stek dan Zat Pengatur Tumbuh Atonik Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Dua Varietas Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) Lamb. *Jurnal Agroekoteknologi*. 4(4); 2341-2348.
- Mensah, J.K., Obadoni, B.O., Eruotor, P.G., and Onome-Irieguna, F. 2006. Simulated flooding and drought effects on germination, growth, and yield parameters of sesame (*Sesamum indicum* L. *African Journal of Biotechnology* 5 (13),1249-1253.
- Miazek, M. 2002. Krystian Chlorophyl Extraction From Harvested Plant Material. Supervisor. Prof. Dr. Ha. Inz Stanislaw Ledakwicz.
- Muliani, Y.N., Damayanti, F., dan Rostini, N. 2014. Seleksi *In Vitro* Enam Kultivar Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Hasil Radiasi Sinar Gamma Untuk Toleransi Kekeringan Menggunakan Manitol. *Agric. Sci. J.* 1(4): 71-79.

- Nikmah, Z. C., Slamet, W. dan Kristanto, B. A. 2017. Aplikasi Silica dan NAA terhadap pertumbuhan Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* L.) pada Tahap Aklimatisasi. *J. Agro Complex*. 1(3):101-110.
- Nurchayani, E., Mutmainah, N.A., Farisi, S., Agustrina, R. 2019a. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Menggunakan Metode Fenol-Sulfur Secara *In Vitro*. *Analytical and Environmental Chemistry Journal*. 4(01):73-80.
- Nurchayani, E., Sazilly M.R., Farisi, S., Agustrina, R. 2019b. Efek Inokulasi *Rhizoctonia solanii* Terhadap Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Kacang Panjang (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Secara *In Vitro*. *Analytical and Environmental Chemistry Journal*. 4(01):81-90.
- Nurchayani, E., Sumardi, Qudus, H.I., Palupi, A., dan Sholekhah. 2019c. Analysis of Chlorophyll *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl. Result of the Resistance to *Fusarium oxysporum* and Drought Stress. *Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*. 12(11):41-46.
- Riyadi, I. 2014. *Media Tumbuh : Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh dan Bahan-Bahan Lain*. Materi disampaikan pada Pelatihan Kultur Jaringan Tanaman Perkebunan. BPBPI Bogor 19-23 Mei 2014.
- Rosalina, N., Nurchayani, E., Qudus, H.I., Zulkifli. 2018. Pengaruh Larutan Atonik Terhadap Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Jeruk Siam Pontianak (*Citrus nobilis* Lour. var. *microcarpa* Hassk.) Secara *In Vitro*. *Analytical and Environmental Chemistry Journal*. 3 (01). 61-68. ISSN E-ISSN 2540-8267.
- Setyanti, Y.H., Anwar, S., dan Slamet, W. 2013. Karakteristik Fotosintetik dan Serapan Fosfor Hijauan Alfalfa (*Medicago sativa*) Pada Tinggi Pemotongan dan Pemupukan Nitrogen Yang Berbeda. *Animal Agriculture Journal*. 2(1):86-96.
- Sumiati, E. 2001. Pengaruh Pemberian Zat Pengatur Tumbuh terhadap Hasil, Kualitas dan Umur Simpan Buah Tomat Kultivar Gondol. *Jurnal Hortikultura*. 11: 30-39.
- Suprpto, A. 2004. Auksin: Zat Pengatur Tumbuh Penting Meningkatkan Mutu Stek Tanaman. 21 (1):81-90.