RESPON EMBRIO SOMATIK KALUS KENCUR (*Kaempferia galanga* L.) TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN DENGAN PERLAKUAN POLYETHYLENE GLYCOL 6000 DAN NAPTHANELE ACETIC ACID

Anis Shofiyani[1], Agus Mulyadi Purnawanto dan Virza Carmelita
Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Perikanan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto

ABSTRACT

Kencur (Kaempferia galanga L.) is a plant that has a high enough rhizome selling value. Increased production can be done by expanding the land. However, cultivated land in Indonesia is generally dominated by dry land with limited water availability. The research objective was to obtain galanga callus that were tolerant of drought in vitro using the PEG 6000 selective agent. Randomized block design (RBD) 2 factors were repeated 3 times. PEG 6000 concentrations were 0%, 5%, 10%, 15%, 20% and NAA concentrations were 1mg/l, 1.5mg/l, 2mg/l. The parameters observed were callus morphology (texture and color), wet weight, dry weight, percentage of fresh callus, number of roots, proline content, and live callus percentage. The results showed compact textures that were green, white, and brown. Wet weight, dry weight, percentage of fresh callus, number of roots of PEG 6000 treatment resulted in a decreasing value while the proline content increased with the increase in PEG 6000 concentration. The NAA treatment at the concentration of 1mg/l produced the most roots, while the percentage value of fresh callus was inversely proportional to the value of the proline content. The lower the PEG 6000 and NAA concentrations resulted in more roots. The higher the PEG 6000 concentration and the lower the NAA concentration resulted in high the proline content. PEG 6000 20% still produced 61% living callus.

***Keywords**: K. galanga, callus, PEG 6000, NAA*
Diterima: 29 Juli 2021 *Diterbitkan: 1 Desember 2021*

PENDAHULUAN

Kencur (*Kaemferia galanga* L.) merupakan tanaman rimpang yang biasa dikenal sebagai tanaman obat. Tanaman ini berasal dari India dan tumbuh di dataran rendah maupun pegunungan. Tanaman kencur banyak dimanfaatkan sebagai penyedap makanan, minuman dan digunakan sebagai bahan obat obatan (Heyne, 1987). Tanaman kencur dipercaya dapat mengobati penyakit tertentu diantaranya masuk angin, batuk, dan sakit tenggorokan, mengatasi infeksi bakteri dll. Tanaman kencur masuk dalam kelompok Zingiberaceae yang memiliki nilai jual hasil rimpangnya yang cukup tinggi (Sudiarto *et al*., 1991).

Permintaan kencur terus meningkat, sehingga diperlukan upaya penyediaan kencur dengan kualitas yang unggul. Salah satu upaya yang dapat dilakukan yaitu melalui perluasan areal tanam. Namun, perluasan areal tanam terkendala oleh terbatasnya areal tanam potensial yang ada. Indonesia memiliki daratan yang cukup luas, menurut data BPS (2013) luas daratan Indonesia ±191,09 juta Ha. Diantara luas lahan tersebut, terdapat lahan sub optimal seluas 153,04 juta Ha daratan yang diantaranya terdapat sekitar 107,36 juta Ha termasuk ke dalam lahan kering masam dan sekitar 10,75 juta Ha lahan kering iklim kering. Salah satu solusi alternatif yang dapat dilakukan dalam penanganan masalah tersebut yaitu pembentukan tanaman kencur yang tahan kekeringan sehingga dapat dilakukan perluasan area tanam secara ekstensif di lahan kering.

Melalui teknik *in vitro* dapat diseleksi tanaman yang tahan kekeringan dengan menggunakan agen selektif seperti *Polyethylene glycol* (PEG) yang dapat menginduksi stress atau cekaman air pada tanaman. Seleksi *in vitro* menggunakan media selektif PEG telah dilakukan dalam

mengembangkan galur toleran cekaman kekeringan (Rahayu *et al*., 2007). Rahayu *et al.* (2005) menyatakan larutan PEG memiliki sifat menghambat pertumbuhan tunas kacang

tanah dan meningkatkan kandungan prolin total jaringan, sehingga diduga mampu menstimulasi kondisi cekaman kekeringan pada media *in vitro*. Penggunaan PEG dalam kultur jaringan pada induksi cekaman kekeringan tanaman dilakukan dengan pengurangan air larutan nutrisi dengan tanpa menyebabkan terjadinya keracunan tanaman (Husni *et al.*, 2006).

Tanaman kencur yang tahan kekeringan dapat diseleksi dengan pemberian PEG pada kalus. Berdasarkan penelitian Sumarjan dan Hemon (2009) didapati bahwa embrio somatik kacang tanah (*Arachis hipogea*) pada perlakuan PEG 15% dan 20% menyebabkan adanya penurunan persentase embrio somatik berturut-turut hingga 96,9% dan 86,9%. Widoretno (2008) menyatakan pada kalus embrio somatik kedelai mampu toleran hidup pada konsentrasi PEG subletal 20%. Badami dan Amzeri (2010) menyatakan bahwa pada penggunaan konsentrasi PEG 20% perkembangan eksplan jagung terhambat dan mati, perlakuan PEG 5% dan 10% berturut turut menurunkan frekuensi eksplan membentuk embrio somatik sebanyak 1-4% dan 2-6%. Sedangkan menurut penelitian Hapsari *et al.* (2017) pada penambahan PEG 10%, tunas *Tacca leontopetaloides* menunjukkan penambahan jumlah daun yang relatif lambat dan cenderung terlihat stabil.

Dua golongan ZPT seperti auksin maupun sitokinin telah banyak digunakan dalam kultur jaringan dan dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan. Penggunaannya, kombinasi ZPT disesuakan dengan tujuan kultur yang dilakukan (Suryowinoto, 1989). Menurut Wattimena (1988) Auksin digunakan untuk memacu pertumbuhan akar pada eksplan. Pembentukan akar pada eksplan yang lebih banyak diharapkan dapat meningkatkan penyerapan air oleh eksplan dan ketahanan dalam seleksi kekeringan.

Sesuai dengan latar belakang dan beberapa hasil penelitian tersebut, penggunaan PEG dan NAA mempengaruhi cekaman kekeringan pada tanaman. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai penggunaan PEG 6000 dan NAA terhadap kalus kencur (*Kaempferia galanga L.*).

2. METODE PENELI TIAN

Bahan dan Alat

Kalus kencur hijau (embriogenik), MS instan, gula, *Polyethylene Glycol* (PEG) 6000, *Napthalene Acetic Acid* (NAA), alkohol 70%, busa sintetik, kertas saring, *Laminar Air Flow Cabinet (LAFC)*, autoklaf, oven, botol kultur, cawan petri, pinset.

Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAK) dengan PEG 6000 (0%; 5%; 10%; 15%; 20%) dan NAA (1 mg/l; 1,5mg/l; 2 mg/l). Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Pengamatan dan Analisis Data

Pengamatan dilakukan pada umur 1 bulan untuk bobot basah, bobot kering, jumlah akar, persentase kalus segar, persentase kalus hidup, morfologi (tekstur dan warna), dan pengujian kandungan prolin (Bates *et al.*, 1973) dilakukan pada 4 bulan setelah kultur akibat pandemi *COVID-19*. Data bobot basah, bobot kering, jumlah akar, persentase kalus segar dan kandungan prolin dianalisis dengan analisis ragam ANOVA taraf 5 % dan dilanjutkan uji DMRT pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis stataistik menujukkan bahwa perlakuan PEG berpengaruh terhadap bobot basah, bobot kering, jumlah akar, persentase kalus segar, dan kandungan prolin. Perlakuan NAA berpengaruh terhadap persentase kalus segar, jumlah akar, dan kandungan prolin. Interaksi perlakuan konsentrasi PEG 6000 dan konsentrasi NAA berpengaruh nyata terhadap jumlah akar dan kandungan prolin. Pengamatan morfologi kalus menunjukkan bahwa terbentuk kalus dengan tekstur kompak dengan warna hijau, putih dan kecoklatan pada hampir semua perlakuan dalam penelitian ini (Tabel 1 dan 2).

Bobot kalus pada perlakuan PEG 0% (P0) dapat tumbuh lebih baik dan lebih tinggi dari perlakuan dengan penambahan PEG yaitu seberat 2,099 gram. Secara fisiologi, bobot basah memiliki kandungan air serta

karbohidrat, dan tingginya bobot basah dikarenakan kandungan air yang cukup tinggi pula (Ruswaningsih dalam Indah *et al.*, 2013). PEG 6000 berpengaruh pada pertumbuhan kalus dan beratnya mengalami penurunan pada setiap penambahan konsentrasi PEG (Azizah, 2010). Hasil bobot kering kalus juga berhubungan dengan jumlah bobot basah eksplan sebelum dihilangkan kadar airnya. Makin tinggi konsentrasi PEG yang diberikan maka kehilangan air pada kalus semakin rendah.

Tabel 1. Morfologi (tekstur dan warna)

Perlakuan	Tekstur Kalus	Warna Kalus
P0N1	Kompak	Hijau Keputihan Sedikit Coklat
P5N1	Kompak	Hijau Keputihan Sedikit Coklat
P10N1	Kompak	Hijau Sedikit Coklat Dan Putih
P15N1	Kompak	Hijau Keputihan Sedikit Coklat
P20N1	Kompak	Hijau Kecoklatan
P0N1,5	Kompak	Hijau Keputihan
P5N1,5	Kompak	Hijau Keputihan Sedikit Coklat
P10N1,5	Kompak	Hijau Keputihan
P15N1,5	Kompak	Hijau Keputihan Sedikit Coklat
P20N1,5	Kompak	Hijau Kecoklatan
P0N2	Kompak	Putih Kecoklatan Sedikit Hijau
P5N2	Kompak	Putih Kecoklatan Sedikit Hijau
P10N2	Kompak	Hijau Kecoklatan Sedikit Putih
P15N2	Kompak	Hijau Kecoklatan Sedikit Putih
P20N2	Kompak	Coklat Sedikit Hijau Dan Putih

Pengaruh Konsentrasi PEG 6000 terhadap Kalus Kencur

Penurunan persen kalus segar selaras dengan penambahan PEG yang makin tinggi. Menurut Larcher dalam Salisbury dan Ross (1995) bahwa tanaman yang tercekam akan memberikan reaksi tanda bahaya seperti fungsi fisiologis yang mulai terganggu lalu tanaman akan beradaptasi pada cekaman tersebut hingga mengalami kematian apabila faktor cekaman yang didapat meningkat serta berlangsung terus-menerus.

Perlakuan PEG 0% (P0) memberikan jumlah akar paling banyak yaitu 3,83 akar. Semakin tinggi konsentrasi PEG menyebabkan penurunan jumlah akar walaupun penurunannya tidak signifikan. Tumbuhnya akar merupakan salah satu indikator yang dapat menunjukkan suatu tanaman toleran kekeringan terhadap penambahan PEG pada media (Hemon dan Sudarsono, 2010).

Tabel 2. Rata-rata bobot basah, bobot kering, persen kalus segar, jumlah akar dan kandungan prolin pada perlakuan konsentrasi PEG 6000 dan NAA terhadap kalus kencur.

Ragam	Bobot Basah (gram)	Bobot Kering (gram)	Prsentase Kalus Segar (%)	Jumlah Akar (helai)	Kandungan Prolin (µmol Prolin/g)
PEG					
P0	2,099 e	0,162 c	82,78 cb	3,83 b	3,54 a
P5	1,748 d	0,181 c	85,00 c	1,83 a	16,54 b
P10	1,171 c	0,173 c	80,00 cb	1,33 a	25,17 bc
P15	0,697 b	0,139 b	68,33 b	1,06 a	29,95 c
P20	0,397 a	0,106 a	40,00 a	0,28 a	-
NAA					
N1	1,247	0,157	69,00 a	4,03 b	24,85 c
N1,5	1,213	0,144	83,00 b	0,03 a	12,46 a
N2	1,204	0,155	61,67 a	0,93 a	19,09 ab
P x N					
P0N1	1,918	0,152	70,00	10,17 c	4,5 ab
P5N1	1,998	0,197	83,33	3,67 b	22,45 bcde
P10N1	1,228	0,182	83,33	2,33 ab	32,95 de
P15N1	0,738	0,158	76,67	3,17 ab	39,48 e
P20N1	0,353	0,098	31,67	0,83 ab	-
P0N1,5	2,263	0,173	98,33	0,00 a	2,09 a
P5N1,5	1,691	0,168	93,33	0,00 a	8,59 ab
P10N1,5	1,063	0,165	86,67	0,17 a	28,29 cd
P15N1,5	0,623	0,122	80,00	0,00 a	10,88 abc
P20N1,5	0,385	0,947	56,67	0,00 a	-
P0N2	2,107	0,160	80,00	1,33 ab	4,02 a
P5N2	1,554	0,179	78,33	1,83 ab	18,57 abcd
P10N2	1,177	0,172	70,00	1,50 ab	14,26 abc
P15N2	0,731	0,138	48,33	0,00 a	29,48 cd
P20N2	0,453	0,126	31,67	0,00 a	-

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukan tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji DMRT

Kandungan prolin tertinggi yaitu pada perlakuan PEG 15% dengan 29,947 µ mol Prolin/g. Sel akan menghasilkan prolin pada saat sel tersebut mengalami cekaman dan berfungsi sebagai pelindung membran plasma dan protein sel (Santoro *et al.*, 1992), mencegah kerusakan membran dan struktur serta denaturasi protein (Smirnoff & Cumbes, 1989) dan berfungsi sebagai agen osmotik berhubungan dengan proteksi kondisi cekaman yang parah (Ain-Lhout *et al*., 2001). Menurut Karlianda *et al* (2013) kalus hidup adalah kalus yang mampu membentuk kalus baru, membengkak, atau kalus yang membentuk tunas serta akar dan kalus statis (tetap hidup tetapi tidak berkembang). Adri dan Widya (2018) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi PEG yang diberikan dapat menyebabkan kematian eksplan. Dari data pengamatan didapati penggunaan PEG 6000 hingga konsentrasi

tertinggi 20% tidak menyebabkan kematian kalus seluruhnya.

PEG atau *Polyethylene Glycol* merupakan senyawa yang dapat menurunkan potensial osmotik larutan. Pemberian senyawa ini pada suatu media dapat mengakibatkan kurangnya air pada media tanam sehingga dapat menstimulasi adanya keadaan cekaman air atau kekeringan. Cekaman kekeringan adalah kondisi lingkungan tanaman yang tidak dapat menerima asupan air yang cukup dan berakibat pada proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang tidak optimal serta dapat menurunkan produksi (Setiawan *et al.,* 2015).

Pengaruh Konsentrasi NAA Terhadap Embrio Somatik Kalus Kencur.

Perlakuan NAA 1,5 mg/l (N1,5) menghasilkan kalus segar tertinggi sebesar 83%. Perlakuan NAA berpengaruh nyata pada persen kalus segar tetapi tidak berpengaruh nyata pada bobot basah kalus. NAA merupakan salah satu zat pengatur tumbuh golongan auksin. Auksin memiliki pengaruh terhadap perkembangan sel diantaranya dapat meningkatkan difusi masuknya air ke dalam sel dan mendukung permaebilitas masuknya air ke dalam sel (Wiraatmaja, 2017). Sehingga konsentrasi NAA yang tepat dapat membantu embrio somatik dalam pemenuhan kebutuhan air untuk membantu pertumbuhan dan perkembangan.

Perlakuan NAA 1 mg/l (N1) paling banyak membentuk akar dengan rerata 4,033 akar. Makin rendah konsentrasi NAA menghasilkan jumlah akar semakin banyak. Hasil penelitian ini sejalan dengan Fitriani (2008) pada tanaman A. *annua* didapati penggunaan auksin NAA 1 mg/l tanpa BAP menghasilkan jumlah akar terbanyak. Semakin rendah konsentrasi NAA yang digunakan menghasilkan jumlah akar yang semakin banyak. Hal tersebut sesuai dengan Skoog dan Miller (1975), dimana pada perakaran secara in vitro biasanya digunakan auksin dengan konsentrasi rendah dan Salisbury dan Ros (1995), mengatakan pemberian auksin yang rendah merangsang pertumbuhan panjang akar sedangkan pada konsentrasi tinggi hampir selalu menghambat pertumbuhan akar.

Perlakuan N1 menghasilkan kandungan prolin tertinggi (24,85 µ mol Prolin/g) sedangkan NAA 1,5 mg/l (N1,5) menghasilkan prolin terendah (12,46 µ mol Prolin/g). Tabel 4.2 menunjukkan bahwa kandungan prolin berbanding terbalik dengan persentase kalus segar pada perlakuan NAA. Prolin dengan kandungan terendah memiliki persen kalus segar yang paling tinggi. Hal tersebut diduga karena embrio somatik pada perlakuan N1,5 memiliki ketahanan yang lebih baik terhadap perlakuan cekaman kekeringan dibandingkan konsentrasi NAA lainnya.

Pengaruh Interaksi Perlakuan Konsentrasi PEG 6000 dan Konsentrasi NAA Terhadap Jumlah Akar, Kandungan Prolin Dan Morfologi Kalus Kencur.

Berdasarkan hasil pengamatan jumlah akar pada embrio somatik kencur diketahui bahwa interaksi antara konsentrasi PEG 6000 dan konsentrasi NAA paling tinggi yaitu pada interaksi dengan konsentrasi PEG 6000 0% dan konsentrasi NAA 1 mg/l (P0N1) yaitu jumlah akar sebanyak 10,167 akar. Dari data pada tabel 4.2 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi PEG 6000 dan NAA yang diberikan pada media maka semakin rendah pula jumlah akar yang terbentuk. Kramer (1983) mengatakan bahwa cekaman kekurangan air bisa menyebabkan penurunan sintesis dan translokasi zat pengatur tumbuh. Konsentrasi NAA dan PEG yang semakin tinggi maka semakin menghambat regenerasi kalus menjadi akar. Salisbury dan Ros (1995) mengatakan pemberian auksin yang rendah merangsang pertumbuhan panjang akar sedangkan pada konsentrasi tinggi hampir selalu menghambat pertumbuhan akar. Sedangkan Hemon dan Sudarsono (2010) juga mengatakan bahwa tumbuhnya akar merupakan salah satu indikator yang dapat menunjukkan suatu tanaman toleran kekeringan terhadap penambahan PEG pada media.

Kombinasi perlakuan PEG 6000 15% dan NAA 1 mg/l (P15N1) menghasilkan prolin tertinggi (39,48 µ mol Prolin/g).

Kandungan prolin berhubungan dengan persentase kalus segar yang dihasilkan. Saat sel tetap segar dalam kondisi cekaman

kekeringan menunjukkan bahwa sel tersebut mampu beradaptasi dengan cekaman dan memproduksi metabolit primer lebih banyak dibandingkan metabolit sekunder. Metabolit sekunder diproduksi pada saat sel mengalami cekaman pada pertumbuhan, dimana produksi metabolit primer dialihkan pada produksi metabolit sekunder. Aisyah (2007) mengatakan bahwa kalus akan dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder pada saat kalus tersebut mengalami aktifitas atau penurunan sel.

Santoro *et al.* (1992) menyatakan bahwa sel akan menghasilkan prolin pada saat sel tersebut mengalami cekaman dan berfungsi sebagai pelindung membran plasma dan protein sel. Berhubungan dengan jumlah akar yang didapat, pada saat sel memiliki akar untuk pertumbuhan dan perkembangan kemungkinan sel tersebut akan lebih responsif terhadap kadar air yang ada media dan lebih terpengaruh oleh adanya stres kekeringan yang diberikan.

Pengamatan morfologi kalus (tekstur dan warna) menunjukkan bahwa kalus kencur bertekstur kompak dengan warna yang dihasilkan cukup beragam dari warna awal kalus yang berwarna hijau. Warna yang dihasilkan pada akhir pengamatan yaitu berwarna hijau, putih dan coklat. Hal tersebut menandakan bahwa konsentrasi PEG 6000 pada media yang digunakan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap morfologi warna kalus kencur.

Kalus yang kompak dianggap mempunyai akumulasi yang baik pada metabolit sekunder dan lebih lambat dalam proses pembelahan selnya daripada kalus remah. Maka dari itu kalus kompak memiliki kemampuan menghasilkan metabolit sekunder yang lebih tinggi daripada kalus remah. Berdasarkan data hasil pengamatan mengenai tekstur kalus didapati bahwa semua kalus pada perlakuan menghasilkan kalus kompak dimana menurut Dodd (1993) kalus yang memiliki tekstur kompak umumnya memiliki ukuran sel kecil dengan sitoplasma padat, inti besar dan memiliki banyak pati gandum (karbohidrat).

Hal ini diperkuat dengan pernyataan Laila dan Savitri (2013) perlakuan PEG 6000 pada kalus stevia menghasilkan kalus kompak. Adri dan Widya (2018) juga mengatakan bahwa respon embrio somatik tanaman gambir pada konsentrasi 10% dan 20% tidak ditemukan kalus remah.

Warna hijau pada kalus disebabkan adanya kandungan klorofil. Fatmawati (2008) dalam Lizawati (2012) mengatakan bahwa warna hijau kalus menunjukkan adanya klorofil dalam jaringan dimana kandungan klorofil sebanding dengan semakun hijau warna kalus. Sedangkan terbentuknya kalus berwarna putih sesuai pernyataan Zulhilmi (2012) bahwa pada perlakuan PEG 0-3% menghasilkan kalus putih dibagian atas yang menunjukkan bahwa kalus-kalus putih tersebut merupakan sel sel yang baru terbentuk. Hampir semua perlakuan didapati kalus berwarna putih dimana artinya hampir pada semua perlakuan dapat menghasilkan kalus baru kecuali pada perlakuan PEG 20% (P20) yang tidak terdapat kalus berwarna putih.

Warna kalus yang semakin gelap mengidentifikasikan bahwa pertumbuhan pada kalus tersebut semakin menurun. Kalus coklat memiliki viabilitas yang rendah sehingga reproduksi dalam kultur jaringan menjadi terganggu (Sarmadi, 2019) dan salah satu indikasi bahwa terdapat kemunduran fisiologi pada kalus (Rohmah, 2007). Perubahan warna pada kalus akibat penambahan PEG 6000 terlihat pada perlakuan konsentrasi PEG 6000 dimana warnanya ada yang menjadi coklat. Pencoklatan ini dapat berhubungan dengan berkurangnya ketersediaan air pada media sehingga tekanan turgor sel tidak dapat terjaga dan sel tidak dapat berkembang dengan baik.

SIMPULAN DAN IMPLIKASI

SIMPULAN

Perlakuan PEG 6000 20% menghasilkan 40% kalus hidup. Perlakuan NAA signifikan terhadap variabel berat segar, jumlah akar dan kandungan prolin. Jumlah akar terbanyak pada perlakuan NAA 1mg/l. Perlakuan PEG 6000 dan NAA menghasilkan interaksi berbeda nyata pada jumlah akar dan kandungan prolin. Jumlah akar terbanyak yaitu pada P0N1 sebanyak 4,03 helai sedangkan kandungan prolin terbanyak yaitu pada P15N1 39,48 µ mol Prolin/g.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat UMP yang telah mendanai penelitian ini dengan surat perjanjian Penelitian Produk Terapan nomor : A11.III/475-S.Pj/LPPM/XI/2019.

DAFTAR PUSTAKA

Adri, R. F. dan N, Widya. 2018. Uji Respon PEG Terhadap Embrio Somatik Tanaman Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dalam Upaya Memperoleh Klon Gambir Toleran Cekaman Kekeringan. *MENARA Ilmu.* 12(12):129-134.

Ain-Lhout, F., Zunzunegui, M., Diaz Barradas, M. C., Tirado, R., Clavijo, A., & Garcia Novo, F. (2001). Comparison of proline accumulation in two mediterranean shrubs subjected to natural and experimental water deficit. *Plant and Soil. 230(2), 175–183.* doi:10.1023/a:1010387610098

Aisyah, S. I. 2007.Induksi Kalus Embriogenik Pada Kultur *In Vitro* Jagung (*Zea Mays* L.) dalam Rangka Meningkatkan Keragaman Genetik Melalui Variasi Somaklonal. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia. 4 (3): 344-350.*

Azizah, I. S. 2010. Respon Kalus Kedelai (*Glycine max* L. Merr) pada Media B5 dengan Penambahan PEG (*Polyethylene Glicol*) 6000 sebagai Simulasi Cekaman Kekeringan. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim. Malang.

Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan. 2017. *Info Komoditi Tanaman Obat*. Cetakan 1. BPPP Kemendag RI. Jakarta.

Badan Pusat Statistik. 2018. *Statistik Indonesia 2018*. Biro Pusat Statistik. Jakarta.

Bates, L. S., R. P. Waldren, and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39(1): 205–207.

Fitriani, H. (2008). Kajian konsentrasi BAP dan NAA terhadap multiplikasi tanaman artemisia annua L. secara *in vitro*. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Solo.

Hemon, A.F., Sudarsono. 2010. Evaluation of somaclones peanut plants regenerated from repeat cycles of *in vitro* selection against drought stress. *J. Agron*. Indonesia 38:36-42.

Hidayati, N., Hendrati, R. L., & Triani, A. (2017). Pengaruh Kekeringan Terhadap Pertumbuhan Dan Perkembangan Tanaman Nyamplung *(Callophylum inophyllum L .)* Dan Johar *(Cassia florida Vahl .)* Dari Provenan Yang Berbeda. Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan. *11*(2), 99–111.

Indah, N. P & Dini E. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllim inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi *6-Benzylaminopurine* (BAP) dan *2,4-Dichlorophenoxyacetic* (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits 2(1): 2337-3520.*

Karlianda, N., Wulandari, R. S., & Mariani, Y. (2013). Pengaruh NAA dan BAP terhadap perkembangan subkultur gaharu (Aquilaria malaccensis. Lamk). *Jurnal Hutan Lestari*, *1*(1).

Kramer, P. J. 1983. *Plant and Soil Water Relationships, A Modern Syhnthesis*. Tata McGraw Hill Pub. Comp. Ltd. New Delhi. Pp. 1-45. 347-390.

Lizawati. 2012. Induksi Kalus Embriogenik Dari Eksplan Tunas Apikal Tanaman Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) Dengan Penggunaan 2,4 D DAN TDZ. Journal Vol. 1, No. 2.

Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. *Buletin AgroBio* 5(2):51–58.

Rahayu,E.S., Guhardja, E., Ilyas, S & Sudarsono. 2005. Polietilena Glikol (PEG) Dalam Media *In Vitro* Menyebabkan Kondisi Cekaman

yang Menghambat Tunas Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.). *Berk. Penel. Hayati* 11: 39-48.

Rohmah, S. N. 2007. Penggunaan BAP dan 2,4-D Dalam Kultur *in vitro* Ilesiles (*Amorphophallus muelleri* Blume.). *Tugas Akhir*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan. Jilid 3.* Penerjemah: Lukman, D.R. dan Sumaryono. Bandung: Penerbit ITB.

Sarmadi, M., Karimi, N., Palazón, J., Ghassempour, A., & Mirjalili, M. H. 2019. Improved effects of *polyethylene glycol* on the growth, antioxidative enzymes activity and taxanes production in a *Taxus baccata* L. callus culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. *137*(2): 319–328. https://doi.org/10.1007/s11240-019-01573-y.

Smirnoff, N., and Cumbes, Q.J. 1989. Hydroxyl radical scavening activity of compatible solutes. *Phytochemistry*. 28: 1057-1060.

Sudiarto, A., A. Rivaie, dan Riyanto. 1991. Pengaruh Kedalaman Tanah dan Macam Bibit Terhadap Hasil Rimpang Kencur. *Buletin Littri 2 :* 14-19.

Wattimena, G. A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor: PAU IPB.

Wiraatmaja, I.W. 2017. *Zat Pengatur Tumbuh Auksin dan Cara Penggunaannya Dalam Bidang Pertanian*. Universitas Udayana. Denpasar.

Zulhilmi, Suwirmen, dan N.W. Surya. 2012. Pertumbuhan dan Uji Kualitatif Kandungan Metabolit Sekunder Kalus Gatang (*Spilanthes acmella* Murr.) dengan Penambahan PEG untuk Menginduksi Cekaman Kekeringan. *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J. Bio. U.). 1*(1), 1–8.