

**PENGARUH KONSENTRASI METIONIN TERHADAP  
ORGANOGENESIS SOMATIK REPETITIF JERUK JAPHANSCE  
CITROEN (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) DENGAN  
TEKNIK THIN CELLS LAYER (TCL)**

**SKRIPSI**

**Oleh :**

**DIAH ASRI ARIANTIKA**

**NIM. 14620027**



**JURUSAN BIOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG**

**2018**

**PENGARUH KONSENTRASI METIONIN TERHADAP  
ORGANOGENESIS SOMATIK REPETITIF JERUK JAPHANSCE  
CITROEN (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) DENGAN  
TEKNIK THIN CELLS LAYER (TCL)**

**SKRIPSI**

**Oleh :**

**DIAH ASRI ARIANTIKA**

**NIM. 14620027**



**JURUSAN BIOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG**

**2018**

**PENGARUH KONSENTRASI METIONIN TERHADAP  
ORGANOGENESIS SOMATIK REPETITIF JERUK JAPHANSCE  
CITROEN (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) DENGAN  
TEKNIK THIN CELLS LAYER (TCL)**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**DIAH ASRI ARIANTIKA**

**NIM. 14620027**

**Diajukan Kepada:**

**Fakultas Sains dan Teknologi**

**Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang**

**untuk Menemenuhi Salah Satu Persyaratan dalam**

**Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN BIOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG**

**2018**

# HALAMAN PERSETUJUAN

**PENGARUH KONSENTRASI METIONIN TERHADAP  
ORGANOGENESIS SOMATIK REPETITIF JERUK JAPHANSCE  
CITROEN (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) DENGAN  
TEKNIK THIN CELLS LAYER (TCL)**

## SKRIPSI

Oleh:

**DIAH ASRI ARIANTIKA**

**NIM: 14620027**

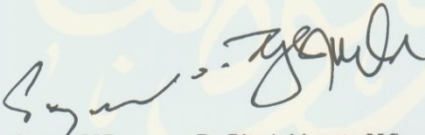
Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji

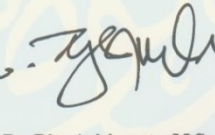
Tanggal: 22 November 2018

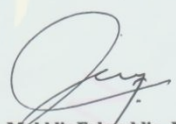
Pembimbing I,

Pembimbing II,

Pembimbing III,

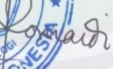
  
Suvono, M.P  
NIP. 19710622 200312 1 002

  
Dr. Dita Agisimanto, M.Sc  
NIP. 1971003 200112 1001

  
M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I  
NIPT. 20142011409

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi



  
Romaidi M.Si., D.Sc  
NIP. 19810201 200901 1 019

## HALAMAN PENGESAHAN

**PENGARUH KONSENTRASI METIONIN TERHADAP  
ORGANOGENESIS SOMATIK REPETITIF JERUK JAPHANSCE  
CITROEN (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) DENGAN  
TEKNIK THIN CELLS LAYER (TCL)**

## SKRIPSI

Oleh:

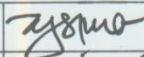
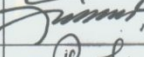
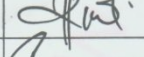
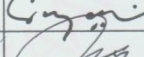
DIAH ASRI ARIANTIKA

NIM: 14620027

Telah Dipertahankan

di Depan Penguji Skripsi dan dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu  
Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: 22 November 2018

|                    |                                                             |                                                                                      |
|--------------------|-------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Penguji Utama I    | Dr. Dita Agisimanto, M.Sc<br>NIP. 1971003 200112 1 001      |  |
| Penguji Utama II   | Dr. Evika Sandi Savitri, M.P<br>NIP. 19741018 2003 12 2 002 |  |
| Ketua Penguji      | Ruri Siti Resmisari, M.Si<br>NIDT. 19790123 20160801 2 063  |  |
| Sekretaris Penguji | Suyono, M.P<br>NIP. 19710622 200312 1 002                   |  |
| Anggota Penguji    | M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I<br>NIPT. 20142011409             |  |

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Romadi, M.Si., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019



# PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Diah Asri Ariantika  
 NIM : 14620027  
 Jurusan : Biologi  
 Fakultas : Sains dan Teknologi  
 Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi Metionin Terhadap Organogenesis Somatik Repetitif Jeruk Japhansce Citroen (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) Dengan Teknik Thin Cells Layer (TCL)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar rujukan. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 06 November 2018



Diah Asri Ariantika  
 NIM. 14620027

## *MOTTO*

*Hasil Berbanding Lurus Dengan Usaha!!!*



### Halaman Persembahan

Alhamdulillahirabbil'alamiin,, tidak ada kata yang lebih indah melainkan rasa syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat serta hidayah-Nya, yang selalu membimbing di setiap langkah saya sehingga saya dapat menimba sedikit ilmu-Nya.

Shalawat dan salam tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Agung Muhammad SAW yang telah menuntun kita semua dari jalan kegelapan menuju jalan yang terang benderang yakni Addinul Islam.

Hasil tugas akhirku ini saya persembahkan untuk:

Kedua orang tua saya, Bapak Darjianto dan Ibuk Suwanah yang tidak henti-hentinya mendo'akan saya, mengingatkan saya, mendukung tiap langkah saya, menyemangati saya di saat saya kendor. Terima kasih telah menjadi motivator terbaik saya. Dan juga adikku Setiawan Bagus Pribadi yang selalu mengisi hari2ku saat pulang, mengisi semangatku lagi, tempat curhat, dan terima kasih sudah menyanyangi mbakmu yang kayak bocah ini, hehe.

Terima kasih sebesar-besarnya kepada Bapak Dita Agisimanto dan Bu Atik yang telah membantu dalam pengerjaan penelitian, membagi ilmu, dan memberikan perhatian yang sangat baik kepada saya dan anak didik yang lain.

Tak lupa juga kepada bibi dan pamanku, mbak Amalia Eka Wardati, mas Agus Syifa'un Najah, Mas Ahmad Fanani yang rela bolak balik ATM hanya sekedar untuk memenuhi kembali kantong bocah rantau yang sedang kosong, hehe.. terima kasih juga untuk mas Agus yang rela bolak balik nyervis si kotak kecil yang suka ngambek (laptop)..

Terima kasih jugaa kepada teman spesial, Muhammad Rasyid Karomi yang sudah tidak terhitung bantuan yang diberikan kepada saya sampai akhirnya saya mampu menyelesaikan tugas akhir saya. Juga terima kasih kepada Fatih dan Fahima, bocah2 yang selalu membuatku auto good mood

Buat Srikandi Squad (Emak, mbak umi, Herlii, dan Anit nut) terimakasih telah memberikan warna tersendiri buat hidupku, mendengarkan keluh kesah ku selama mengerjakan penelitian, dan saling memberi semangat.. kalian sangat berarti

Buat adek-adek Filant Corp (Ertong, Buk Nur, Enduut, Pinia, Pila) terima kasihih sudah menjadi adek-adek yang begitu pengertian, selalu memberi semangat, adek-adek yang begitu dewasa pemikirannya.. Huhu maafkan mbakmu yang masih kayak bocah inii.. semoga diberi kelancaran kerjanya, dan selalu rukun.. terima kasih juga pada Apang, Ali, Paris, dan Mas Ari yang selalu hobi dalam melakukan pembulian kepadakuu hhaha, semoga kalian segera insyaf

Buat Mbak-mbak dan teman2 selama di Balitjestro,

Mbak rine, yang selalu membantuku, membimbingku, menyemangatiku, yang selalu murah hati dalam berbagi ilmu, yang selalu mengingatkanku saat aku salah, yang sering memberikan tebengan saat ketemu di jalan, yang selalu



sharing pengalaman<sup>2</sup> yang menakjubkan, yang selalu siap sedia saat aku membutuhkan bantuan di balai.. love love pokoknya..

Mbak Muz, mbak Pipit, mbak Seli, mbak Upik, mbak Geby, mbak Zizah, mbak Mi, mas Sugeng, mas Nuri dan mas Wawan yang tidak henti<sup>2</sup>nya memberi semangat, membantu selama proses pengerjaan penelitian, mengajari dan memberi tau saat aku bertanya, dan terimakasih karena tidak bosan menjawab pertanyaanku yang selalu ku ulang-ulang

Terima kasih untuk Vida, Memey, Anggi, sesama pejuang skripsi di balai, yang selalu mendengar keluh kesah saat di balai, dan tidak segan<sup>2</sup> membantuku saat aku dalam kekusahan, menemani dan membantu menuliskan data saat pengamatan yang membutuhkan waktu lumayan lama, dalam ruangan dingin berAC.. Kalian partner penelitian yang sangat hebat, semoga kedepannya kalian selalu dipermudah jalannya.. aamiin..

Daan, untuk adek<sup>2</sup> PKL yang membantu saya (Arifah, Tutik, Ranti, Pera, Afandi, dan Yanur) terima kasih atas segala bentuk bantuan yang kalian berikan kepada kuu.. semoga studinya selalu diberi kelancaran.. Amiin

Kepada teman<sup>2</sup> kos Catalonia, khususnya kepada Mbak Pitri, Mbak Ida Zulaikhah dan Dek Lina, terima kasih atas segala kebaikan kalian.. dan semua warga Catalonia, terima kasih sudah mau hidup satu kos sama saya hahaha

Dan, buat teman-teman biologi'14, terima kasih atas segala dukungan kalian, dunia perkuliahanku dimulai sejak kenal kalian.. semoga kita kelak jadi manusia yang bermanfaat bagi sesama.. Amiin..

Serta semua pihak yang tidak bisa ku sebutkan satu persatu yang telah membantu terealisasinya dan ter-rampungkannya penulisan skripsi ini, semoga Allah selalu melimpahkan keberkahan, rahmah dan hidayah-Nya kepada kita semua, dan selalu dibimbing dalam setiap langkah kehidupan.. Aamiin ☺

## KATA PENGANTAR

*Assalamu 'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh.*

Puji syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan ahmat dan karunia-Nya sehingga pnulis dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul **“Pengaruh Konsentrasi Metionin Terhadap Organogenesis Somatik Repetitif Jeruk Japhansce Citroen (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) Dengan Teknik Thin Cells Layer (TCL)**

”. Sholawat beserta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW. Sang revolusioner pembawa cahaya terang bagi peradaban, salah satunya adalah melalui penddikan yang senantiasa berlandaskan keagungan moral dan spiritual.

Penulis juga haturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan haapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si., D.Sc, selaku ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Suyono, M.P, dan M. Mukhlis Fakhruddin, M.S.I selaku dosen pembimbing utama dan doseem pembimbing agama, yang senantiasa memberikan pengarahan, nasehat, dan motivasi dalam penyelesaian skripsi.
5. Dr. Dita Agisimanto M.Sc. selaku pembimbing lapang yang senantiasa membimbing dalam pengerjaan penelitian sampai akhir penulisan laporan.
6. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku dosen wali yang senantiasa memberikan pengarahan dan nasehat.
7. Segenap Dosen dan Sivitas Akademika Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

8. Kedua orang tua penulis, Bapak Darjianto dan Ibu Suwanah dan adek tersayang dek Bagus yang senantiasa memberikan kasih sayang, do'a, serta dorongan semangat menuntut ilmu kepada penulis selama ini.
9. Laboran dan staff administrasi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Seluruh teman-teman Biologi angkatan 2014 terima kasih atas kerja sama, motivasi, serta bantuannya selama menempuh studi di jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan sumbangan pemikiran, do'a dan semangat hingga terselesaikannya skripsi ini.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas bantuan dan pemikirannya. Sebagai akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi para pembaca. *Amin Allahumma Amiin*

*Wassalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh.*

Malang, 06 November 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

|                                  |             |
|----------------------------------|-------------|
| <b>HALAMAN JUDUL .....</b>       | <b>i</b>    |
| <b>HALAMAN PENGAJUAN .....</b>   | <b>ii</b>   |
| <b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b> | <b>iii</b>  |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>  | <b>iv</b>   |
| <b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>   | <b>v</b>    |
| <b>MOTTO .....</b>               | <b>vi</b>   |
| <b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b> | <b>vii</b>  |
| <b>KATA PENGANTAR.....</b>       | <b>ix</b>   |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>           | <b>xi</b>   |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>        | <b>xiii</b> |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>        | <b>xiv</b>  |
| <b>ABSTRAK .....</b>             | <b>xv</b>   |
| <b>ABSTRACK .....</b>            | <b>xvi</b>  |
| <b>الملخص.....</b>               | <b>xvii</b> |

### **BAB I PENDAHULUAN**

|                              |    |
|------------------------------|----|
| 1.1 Latar Belakang .....     | 1  |
| 1.2 Rumusan Masalah .....    | 12 |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....  | 12 |
| 1.4 Hipotesis.....           | 13 |
| 1.5 Manfaat Penelitian ..... | 13 |
| 1.6 Batasan Masalah.....     | 14 |

### **BAB II KAJIAN PUSTAKA**

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| 2.1 Jeruk Japansche Citroen (JC) .....                        | 16 |
| 2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan .....                            | 22 |
| 2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan Tumbuhan .....               | 22 |
| 2.2.2 Media Kultur Jaringan .....                             | 23 |
| 2.2.3 Macam Kultur Berdasarkan Eksplan yang Digunakan .....   | 25 |
| 2.2.4 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT).....                          | 27 |
| 2.3 Morfogenesis.....                                         | 32 |
| 2.3.1 Organogenesis .....                                     | 32 |
| 2.3.2 Embriogenesis .....                                     | 34 |
| 2.4 Thin Cells Layer (TCL) .....                              | 39 |
| 2.5 Peran dan Fungsi Asam Amino dalam Kehidupan Tumbuhan..... | 40 |
| 2.5.1 Metionin.....                                           | 41 |

|       |                                            |    |
|-------|--------------------------------------------|----|
| 2.5.2 | Struktur Metionin.....                     | 42 |
| 2.5.3 | Peran dan Fungsi Fisiologis Metionin ..... | 43 |

### **BAB III METODE PENELITIAN**

|       |                               |    |
|-------|-------------------------------|----|
| 3.1   | Rancangan Penelitian.....     | 45 |
| 3.2   | Variabel Penelitian.....      | 45 |
| 3.3   | Waktu dan Tempat.....         | 45 |
| 3.4   | Alat dan Bahan.....           | 46 |
| 3.4.1 | Alat.....                     | 46 |
| 3.4.2 | Bahan .....                   | 46 |
| 3.5   | Langkah Kerja.....            | 47 |
| 3.5.1 | Sterilisasi Alat.....         | 47 |
| 3.5.2 | Pembuatan Media.....          | 48 |
| 3.5.3 | Sterilisasi Ruang Tanam ..... | 51 |
| 3.5.4 | Persiapan Bahan Eksplan.....  | 52 |
| 3.5.5 | Tahap Inisiasi .....          | 52 |
| 3.6   | Pengamatan.....               | 54 |
| 3.7   | Analisis Data.....            | 56 |
| 3.8   | Desain Penelitian .....       | 57 |

### **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

|     |                                                                  |    |
|-----|------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1 | Pengaruh Pemberian Metionin terhadap Organogenesis Jeruk JC..... | 58 |
| 4.2 | Pengaruh Metionin terhadap Morfologi Planlet .....               | 69 |
| 4.3 | Kajian Islam Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam.....        | 73 |

### **BAB V PENUTUP**

|     |                  |    |
|-----|------------------|----|
| 5.1 | Kesimpulan ..... | 82 |
| 5.2 | Saran .....      | 83 |

|                            |           |
|----------------------------|-----------|
| <b>DAFTAR PUSTAKA.....</b> | <b>84</b> |
|----------------------------|-----------|

### **LAMPIRAN**



## DAFTAR TABEL

|                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 4.1 Ringkasan Hasil Analisis Varian (ANAVA) Pengaruh Metionin terhadap Organogenesis Jeruk JC ( <i>Citrus limonia</i> Osbeck.).. | 58 |
| Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Metionin terhadap Organogenesis Jeruk JC ( <i>Citrus limonia</i> Osbeck.)..                       | 59 |



## DAFTAR GAMBAR

|                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 2.1 Tanaman Japansche Citroen bersama bunga, buah dan<br>bijinya .....                                                    | 19 |
| Gambar 2.2 Fase Globular .....                                                                                                   | 35 |
| Gambar 2.3 Fase Heart.....                                                                                                       | 35 |
| Gambar 2.4 Fase Torpedo .....                                                                                                    | 35 |
| Gambar 2.5 Struktur Metionin .....                                                                                               | 42 |
| Gambar 3.1 Desain Penelitian.....                                                                                                | 57 |
| Gambar 4.1 Kurva Regresi Pengaruh Metionin terhadap Persen Eksplan<br>Berkalus Jeruk JC ( <i>Citrus limonia</i> Osbeck.) .....   | 64 |
| Gambar 4.2 Kurva Regresi Pengaruh Metionin terhadap Hari Muncul Fase<br>Globular Jeruk JC ( <i>Citrus limonia</i> Osbeck.) ..... | 65 |
| Gambar 4.3 Kurva Regresi Pengaruh Metionin terhadap Jumlah Tunas<br>Jeruk JC ( <i>Citrus limonia</i> Osbeck.).....               | 65 |
| Gambar 4.4 Kurva Regresi Pengaruh Metionin terhadap Panjang tunas<br>Jeruk JC ( <i>Citrus limonia</i> Osbeck.).....              | 65 |
| Gambar 4.5 Kurva Regresi Pengaruh Metionin terhadap Berat planlet<br>Jeruk JC ( <i>Citrus limonia</i> Osbeck.).....              | 66 |
| Gambar 4.6 Hasil Pengamatan Morfologi Planlet Kotiledon Minggu ke 8.                                                             | 69 |
| Gambar 4.7 Hasil Pengamatan Morfologi Planlet Kotiledon pada<br>Minggu ke 20 (5 bulan) .....                                     | 72 |

**Pengaruh Konsentrasi Metionin Terhadap Organogenesis Somatik Repetitif  
Jeruk Japhansce Citroen (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) Dengan  
Teknik Thin Cells Layer (TCL)**

Diah Asri Ariantika, Suyono, Dita Agisimanto dan M. Mukhlis Fahrudin

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metionin terhadap organogenesis somatik repetitif jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.) dengan teknik TCL. Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan dan 5 ulangan. Terdapat satu faktor dalam penelitian ini yaitu konsentrasi metionin meliputi 0 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L, 125 mg/L dan 150 mg/L. Analisis hasil pengamatan menggunakan ANAVA *One way* dengan  $\alpha = 5\%$ , kemudian dilanjutkan dengan uji DMRT dengan taraf signifikan 5% apabila terdapat pengaruh yang nyata terhadap variabel pengamatan. Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh pemberian metionin terhadap organogenesis somatik repetitif jeruk JC. Konsentrasi metionin yang paling efektif untuk organogenesis somatik repetitif jeruk JC adalah 75 mg/L yang mana mampu menginduksi persen eksplan berkalus sebesar 85,5%, hari muncul fase globular paling cepat yaitu 20,20 HST, jumlah tunas sebesar 9,35 tunas per eksplan, panjang tunas tertinggi yaitu 0,908 cm dan berat planlet 0,04 gram. Pengamatan morfologi pada planlet jeruk JC menunjukkan planlet yang ditanam dalam media dengan penambahan metionin sebesar 75 mg/L menghasilkan tunas yang paling banyak sehingga konsentrasi metionin paling optimal untuk menumbuhkan organogenesis somatik repetitif adalah 75 mg/L.

Kata Kunci : Organogenesis somatik repetitif, metionin, *Citrus limonia* Osbeck.

## Effect of Methionine Concentration on Repetitive Somatic Organogenesis of Japhansce Citroen Citrus (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) with Thin Cells Layer (TCL) Technique

Diah Asri Ariantika, Suyono, Dita Agisimanto and M. Mukhlis Fahrudin

### ABSTRACT

The purpose of the research to determine the effect of methionine on repetitive somatic organogenesis of citrus JC (*Citrus limonia* Osbeck.) with TCL techniques. This study was experimental, using a completely randomized design (CRD) with 7 treatments and 5 replications. There is one factor in this study, namely the concentration of methionine includes 0 mg / L, 25 mg / L, 50 mg / L, 75 mg / L, 100 mg / L, 125 mg / L and 150 mg / L. Analysis of observations using One way ANOVA with  $\alpha = 5\%$ , then continued with DMRT test with a significance level of 5% if there is a significant effect on the observation variable. The results of the study showed the influence of methionine administration on repetitive somatic organogenesis of JC oranges. The most effective methionine concentration for repetitive somatic organogenesis Orange JC is 75 mg / L which is capable of inducing percent of explants growing callus by 85.5%, the fastest globular phase of the day is 20.20 HST, the number of shoots is 9.35 shoots per explant, the highest shoot length is 0.908 cm and the weight of 0.04 gram plantlets. Morphological observations on JC citrus plantlets showed that plantlets planted in the media with the addition of 75 mg / L of methionine produced the most shoots so that the most optimal methionine concentration to grow repetitive somatic organogenesis was 75 mg / L.

Keywords: repetitive somatic organogenesis, methionine, *Citrus limonia* Osbeck.

تأثير تركيز الميثيونين على اورغنيسس (العملية لتشكيل الجسدي) الجسدي المتكرر لبرتقال جابانسي سيتروين (JC)  
*Citrus limonia Osbeck* (مع تقنية الرقيقة الخلايا الطبقة)  
 Thin Cells Layer (TCL)

دية أسري أريانتیکا ، سويونو ، ديتا أكيسيمانو ، وم. مخلص فخرالدين

الملخص

يهدف هذا البحث إلى تحديد تأثير تركيز الميثيونين على اورغنيسس الجسدي المتكرر لبرتقال جابانسي سيتروين (JC) *Citrus limonia Osbeck* مع تقنية الرقيقة الخلايا الطبقة (TCL). كان هذا البحث تجريبي، باستخدام تصميم عشوائي الكامل (CRD) مع 7 علاجات و 5 مكررات. هناك عامل واحد في هذا البحث، أي تركيز الميثيونين يتضمن 0 ملغ / لتر، 25 ملغم / لتر، 50 ملغم / لتر، 75 ملغم / لتر، 100 ملغم / لتر، 125 ملغم / لتر و 150 ملغم / لتر. استخدم تحليل الملاحظات بطريقة واحدة ANAVA مع  $\alpha = 5\%$ ، ثم استمر مع اختبار DMRT مع مستوى دلالة 5% إذا كان هناك تأثير كبير على متغير الملاحظة. دلت نتائج البحث تأثير إعطاء الميثيونين على على اورغنيسس الجسدي المتكرر لبرتقال جابانسي سيتروين (JC). التركيز الميثيونينا أكثر فعالية لا اورغنيسس الجسدي المتكرر لبرتقال جابانسي سيتروين (JC) هو 75 ملغم / لتر ، الذي يقدر على إحداث نسبة مئوية من إزاحة الكلوس بنسبة 85.5%، تظهر المرحلة الكروية الأسرع 20.20 اليوم بعد الزرع ، وجملة البادرات هي 9.35 بقع لكل إزاحة، أعلى طول للتصويب هو 0.908 سم ووزن النبات هو 0.04 غرام. دلت الملاحظات المورفولوجية على نباتات لبرتقال جابانسي سيتروين (JC) أن النباتات المزروعة في الوسيلة مع إضافة ميثيونين بنسبة 75 ملغم / لتر أنتجت معظم البراعم بحيث أن تركيز الميثيونين الأمثل لزراعة اورغنيسس الجسدي المتكرر هي 75 ملغم / لتر.

الكلمات الرئيسية: اورغنيسس الجسدي المتكرر، ميثيونين، *Citrus limonia Osbeck*



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Tumbuhan merupakan salah satu makhluk hidup ciptaan Allah SWT yang dalam penciptaannya Allah telah melengkapi dengan berbagai manfaat. Hampir semua tumbuhan memiliki manfaat baik untuk lingkungan maupun untuk manusia dan hewan. Tumbuhan dapat dimanfaatkan untuk dikonsumsi, dinikmati estetikanya, sebagai obat maupun sebagai penguat untuk tanaman lain.

Allah SWT menjelaskan dalam Al-Qur'an Surah As-syu'ara Ayat 7 yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik”*.

Menurut *Tafsir Ibnu Katsir* (2007), Allah SWT telah menunjukkan kebesaran kekuasaan-Nya dan keagungan kemampuan-Nya. Allah Maha Perkasa yang telah menciptakan langit, bumi beserta segala hal di dalamnya termasuk tumbuh-tumbuhan dan hewan. *“Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda”*. yaitu tanda kekuasaan Maha Pencipta.

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT telah menciptakan banyak sekali tumbuh-tumbuhan. Makna dari arti *“tumbuh-tumbuhan yang baik”* menunjukkan bahwa segala jenis tumbuhan yang diciptakan Allah tersebut tidak hanya sekedar diciptakan, melainkan memiliki manfaat yang dapat digunakan

untuk memenuhi kebutuhan manusia. Salah satu tumbuhan yang memiliki manfaat untuk manusia yaitu Jeruk (*Citrus* sp.).

Jeruk merupakan komoditas hortikultura yang memiliki nilai ekonomi tinggi sehingga perlu dikembangkan untuk menunjang perekonomian nasional (Harliana, 2012). Jeruk memiliki potensi pasar yang sangat baik, baik di dalam negeri maupun luar negeri, oleh karena itu pengusaha komoditi jeruk berupaya untuk meningkatkan kuantitas, kualitas maupun kontinuitas jeruk (Rezkianti, 2016). Beberapa jenis jeruk telah menjadi unggulan nasional seperti jeruk keprok, jeruk manis, jeruk siam dan jeruk pamelo (Martasari, 2008). Untuk mendapatkan jeruk dengan kualitas yang unggul sehingga agribisnis jeruk dapat meningkat maka hal yang harus diperhatikan adalah persiapan benih (Hardiyanto, 2007).

Pada umumnya perbanyakan tanaman jeruk dilakukan secara vegetatif yakni dengan cara penyambungan atau biasa disebut dengan teknik okulasi (Suharsi dan Ananda, 2013). Menurut Yuniastuti (1992) menyatakan bahwa teknik okulasi merupakan salah satu perbanyakan secara vegetatif dengan memadupadankan atau menyambung batang atas dengan batang bawah. Batang bawah yang digunakan sebagai bibit harus memiliki kualitas baik dan mampu mendukung produksi buah yang tinggi dengan kualitas yang bagus pada batang atas. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Samson (1992) dan Pratomo (2010) yang menyatakan bahwa okulasi antara batang bawah dan batang atas yang memiliki keserasian akan menghasilkan tanaman yang kuat serta akan mendapatkan hasil produksi buah yang tinggi. Pertumbuhan batang atas sangat dipengaruhi oleh kualitas dari batang bawah, karena batang bawah mampu

beradaptasi pada keadaan lingkungan yang tidak optimal misalnya kondisi terlalu kering dan kondisi lingkungan yang terlalu banyak air (Devy, 2008). Selain itu Putra (2011) juga memaparkan salah satu keunggulan dari batang bawah yaitu memiliki perakaran yang kuat, sedangkan sifat dari batang atas yang mampu melakukan produksi yang tinggi.

Selama ini di Indonesia tanaman batang bawah jeruk banyak dikembangkan dari dua jenis yaitu *Rough Lemon* (RL) (*Citrus jambhiri* Lush) dan *Japanche Citroen* (JC) (*Citrus limonia* Osbeck.). Kedua jenis batang bawah RL dan JC memiliki keunggulan yaitu akar dapat menyebar dengan baik secara lateral maupun vertikal, serta keduanya memiliki daya tahan yang tinggi terhadap kekeringan (Supriyanto, 2000). Menurut Soelarso (1996) dibandingkan dengan batang bawah RL, batang bawah JC lebih tahan terhadap penyakit seperti busuk akar, lebih tahan terhadap serangan cacing nematoda dan lebih toleran terhadap virus.

Allah SWT juga berfirman dalam Al-Qur'an Surat Ibrahim ayat 24 yang berbunyi:

أَلَمْ تَرَ كَيْفَ ضَرَبَ اللَّهُ مَثَلًا كَلِمَةً طَيِّبَةً كَشَجَرَةٍ طَيِّبَةٍ أَصْلُهَا ثَابِتٌ وَفَرْعُهَا فِي

السَّمَاءِ ﴿٢٤﴾

Artinya : “Tidakkah kamu perhatikan bagaimana Allah telah membuat perumpamaan kalimat yang baik seperti pohon yang baik, akarnya teguh dan cabangnya (menjulang) kelangit”(QS. 14:24).

Menurut Syaikh Abdur Rahman al Sa'di dalam ayat ini Allah memberikan perumpamaan kalimat yang baik yakni iman ibarat pohon yang baik, yang mana pohon yang baik mempunyai perakaran yang kuat dan menancap dalam ke tanah,

pertumbuhannya berkesinambungan serta memproduksi hasil yang baik (buah yang manis) serta senantiasa ada pada setiap waktu dan musim dengan tujuan memberi manfaat bagi pemiliknya maupun bagi orang lain.

Berdasarkan ayat di atas dapat diketahui bahwa karakteristik pohon yang baik adalah pohon yang memiliki akar kuat dan cabang yang tinggi. Salah satu dari dua karakteristik dari pohon yang baik adalah ciri dari batang bawah jeruk JC yakni memiliki perakaran yang kuat. Selain itu batang bawah jeruk JC juga lebih tahan terhadap penyakit akar (Devy, 2008).

Teknologi perbenihan jeruk harus ditingkatkan dengan tujuan mendapatkan kualitas yang baik dan produktivitas yang tinggi serta menghasilkan benih yang bebas penyakit (Nalia, 2009). Komoditas jeruk merupakan salah satu komoditas yang sangat potensial dikembangkan di Indonesia. Peran yang penting untuk memenuhi kebutuhan konsumsi buah masyarakat dengan kandungan vitaminnya yang tinggi. Selain itu dengan memperoleh produksi buah jeruk dengan kualitas yang baik dapat membantu meningkatkan pendapatan ekonomi masyarakat (Anggraeni, 2003).

Permintaan jeruk pada tahun 2015 sebesar 2,73 kg/kapita/tahun atau sebesar 696.759 ton setelah dikalikan dengan jumlah penduduk. Produksi jeruk diproyeksikan meningkat selama lima tahun ke depan (2015-2019) dengan rata-rata 0,52% (Suwandi dan Roydatul, 2015). Secara umum tingkat pengelolaan kebun jeruk di Indonesia sangat bervariasi dan belum optimal. Belum optimal dalam hal ini dikarenakan masih banyak petani jeruk yang belum menerapkan inovasi teknologi anjuran hasil penelitian sehingga walaupun produktivitasnya

tidak terlalu rendah, namun dari segi mutu buah yang dihasilkan tidak memuaskan (Wahyudi *et al.*, 2017).

Menanggapi masalah tersebut, Kementerian Pertanian pada tahun 2018 sampai 2019 akan menyediakan sejuta bibit jeruk yang ditingkatkan menjadi 2 juta bibit dengan kualitas baik yang akan dibagikan kepada masyarakat. Tujuan dari program tersebut yaitu untuk meningkatkan produksi jeruk dalam negeri dengan kualitas yang baik, sehingga Indonesia tidak lagi impor tetapi justru Indonesia akan melakukan ekspor jeruk (Ramaida, 2018).

Perbanyakan bibit jeruk ini dilakukan dengan cara penyemaian batang jeruk yang toleran terhadap penyakit akar (jeruk batang bawah), kemudian setelah tumbuh bibit disambung dengan jeruk batang atas varietas unggul atau dikenal dengan teknik okulasi. Dengan cara ini maka tanaman jeruk tumbuh dengan baik karena memiliki sistem perakaran yang kuat dan efektif dalam penyerapan unsur hara. Selanjutnya tanaman akan menghasilkan jeruk dengan produktivitas tinggi dan kualitas baik (Wahyudi *et al.*, 2017).

Untuk mendapatkan produksi bibit yang banyak dan bebas dari penyakit, maka perbanyakan secara konvensional menggunakan biji bukan merupakan solusi yang baik. Perbanyakan menggunakan biji akan membutuhkan waktu yang lebih lama dan hasilnya belum tentu bebas dari penyakit. Oleh karena itu, kultur jaringan bisa menjadi alternatif untuk memproduksi benih unggul dengan jumlah yang banyak dan dalam waktu yang singkat (Harliana, 2012).

Kultur jaringan merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mengisolasi bagian suatu tanaman, mulai dari organ hingga sel untuk kemudian



dikembangkan dalam media yang aseptik sehingga akan tumbuh menjadi tanaman baru dengan organ yang lengkap (Karjadi, 2016). Sel, jaringan maupun organ tumbuhan memiliki sifat autonom, selain itu juga memiliki sifat totipotensi yang mana tumbuhan mampu mengatur metabolisme dalam tubuhnya dan juga memiliki sel yang bersifat mampu beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap kembali (Manuhara, 2014).

Faktor utama dalam perbanyakan dengan menggunakan kultur jaringan adalah media (Tuhuteru, 2012). Media kultur jaringan menyediakan sumber karbon berupa sukrosa atau gula, unsur hara makro dan mikro serta bisa juga ditambahkan vitamin, Zat Pengatur Tumbuhan (ZPT) dan asam amino untuk hasil yang lebih baik (Karjadi, 2016). Sukrosa atau gula dalam media kultur jaringan tumbuhan digunakan sebagai pengganti karbon yang diperoleh dari atmosfer untuk fotosintesis, sedangkan vitamin, asam amino dan asam nukleat berperan sebagai kofaktor dalam proses pembentukan enzim, memperlancar respirasi dan menstimulir proliferasi jaringan (Heriansyah, 2014). Menurut Fitriani (2015) asam amino merupakan penyusun protein yang memiliki beberapa fungsi pada tumbuhan antara lain mempercepat reaksi-reaksi kimiawi, perespon sel terhadap rangsangan, dan mengangkut substansi lain.

Beberapa penelitian terkait dengan induksi tunas pada jeruk yaitu antara lain, penelitian Harliana (2012) menunjukkan jumlah tunas jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour.) terbanyak yaitu pada media dengan penambahan IAA 0,1 mg/L dan BAP 0,4 mg/L dengan rata-rata 1,33 tunas per eksplan. Kemudian penelitian Rasud *et al.*, (2015) pada kotiledon jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) yang ditanam

pada media MS dengan penambahan BAP dan Kinetin, rata-rata jumlah tunas per eksplan paling tinggi terdapat pada kotiledon jeruk yang ditanam pada media dengan penambahan BAP 1 mg/L dengan rata-rata jumlah tunas per eksplan sebesar 2,12. Kemudian penelitian Suharijanto (2011) memberikan hasil terbaik pada eksplan jeruk pamelon (*Citrus maxima* Merr.) yang ditanam dalam media MS dengan penambahan BA 2 mg/L, menghasilkan tunas masing-masing eksplan satu tunas dan tidak terjadi multiplikasi.

Beberapa penelitian kultur jaringan tumbuhan yang menggunakan asam amino antara lain penelitian Akhtar *et al.*, (2016) menunjukkan pertumbuhan *Rosa centifolia* terbaik dengan variabel jumlah tunas yang mengering dan tunas yang segar ditunjukkan oleh perlakuan media yang ditambahkan dengan asparagin 9 mg/L dengan jumlah tunas yang mengering paling rendah yakni 6,667 dan jumlah tunas yang segar berjumlah paling banyak yakni 93,33. Kemudian penelitian dari El-Din dan Muhammad (2005) pada tanaman kamomil dengan menggunakan 3 jenis asam amino yaitu ornitin, prolin dan penilalanin dengan konsentrasi 50 mg/L sampai 150 mg/L, berdasarkan hasil penelitian menunjukkan hasil yang baik pada masing-masing asam amino dengan konsentrasi tersebut dan pada tiap konsentrasi menunjukkan hasil yang tidak berbeda secara nyata.

Bhatnagar *et al.*, (2004) menjelaskan bahwa penambahan arginin dengan konsentrasi 50 mg/L sampai 150 mg/L mampu meningkatkan kandungan klorofil pada kalus *Solanum laciniatum*. Sen *et al.*, (2002) menggunakan metionin dengan konsentrasi 4 mM mampu menghasilkan tunas *Vigna radiata* dengan persentase tunas sebanyak 1,19 %. Penelitian Khattab *et al.*, (2016) yang menggunakan

tanaman *Gladiol* sebagai objek penelitian dan menggunakan metionin sebagai perlakuan, penelitian tersebut tidak dilakukan secara *in vitro* melainkan ditanam di media tanam tanah, metionin diaplikasikan ke tanaman *Gladiol* dengan cara umbi tanaman *Gladiol* direndam selama satu hari. Berdasarkan hasil penelitian konsentrasi metionin yang paling efektif adalah 150 mg/L dengan panjang tanaman 82,31 cm.

Peneliti dalam penelitian ini menggunakan zat tambahan berupa metionin yang merupakan salah satu jenis dari asam amino. Menurut Hartadi *et al.*, (1986) asam amino merupakan unit penyusun protein yang memiliki gugus nitrogen dasar. Asam amino memiliki gugusan amino ( $-NH_2$ ) pada posisi alfa dari rantai karbon dan satu gugusan karboksil ( $-COOH$ ). Peneliti menggunakan metionin sebagai perlakuan karena metionin mengandung sulfur yang merupakan salah satu unsur hara makro, selain itu metionin juga merupakan start kodon dalam proses sintesis protein sehingga apabila metionin tidak tercukupi dalam tumbuhan maka proses pembentukan protein juga akan terganggu.

Perlakuan diberikan dengan perbedaan konsentrasi metionin untuk mengetahui konsentrasi yang efektif diberikan untuk proses organogenesis somatik repetitif dan mengetahui batas konsentrasi metionin yang masih mampu direspon oleh tanaman untuk melakukan proses pertumbuhan dan perkembangan. Menurut Sulichantini (2016) dalam sebuah penelitian kultur jaringan tumbuhan perlu adanya perbedaan konsentrasi suatu zat untuk mengetahui respon terbaik suatu objek penelitian terhadap perlakuan yang diberikan berada pada konsentrasi berapa.

Menurut Rosmarkam (2002) metionin merupakan salah satu jenis asam amino yang banyak mengandung sulfur, dimana sulfur merupakan salah satu unsur makro yang dibutuhkan oleh tumbuhan yang berfungsi untuk membentuk ikatan disulfida antara rantai protein. Sulfur sangat dibutuhkan dalam proses pembentukan klorofil meskipun sulfur bukan termasuk dalam komponen penyusun klorofil (Widodo, 2007). Menurut Zemanova (2014) menjelaskan bahwa metionin berfungsi untuk membantu proses sintesis protein dan juga pertumbuhan dari suatu tumbuhan.

Peran metionin dalam sintesis protein sangat penting karena metionin memiliki kode asam amino AUG. Kode asam amino AUG merupakan kode awal untuk proses sintesis protein, sebagaimana dijelaskan oleh Jusuf (2001) yang memaparkan bahwa metionin tersusun dari 3 basa (kodon) yaitu AUG yang berfungsi sebagai start kodon atau kodon awal dalam proses translasi. Apabila dalam tumbuhan tidak terdapat metionin, atau terdapat metionin namun dalam kadar yang sangat sedikit, maka proses sintesis protein atau pembentukan protein akan terganggu, oleh karena itu mengakibatkan pertumbuhan dan perkembangan suatu tumbuhan akan mengalami masalah, yang menyebabkan proses pembentukan organ pada tanaman menjadi terhambat.

Penelitian dari Druart (1988) menjelaskan bahwa pada media kultur jaringan tumbuhan dengan penambahan metionin sebanyak 50-100 mg/L mampu meningkatkan produksi sitokinin endogen. Atas dasar teori tersebut peneliti ingin melakukan penelitian dengan berbagai konsentrasi metionin dengan harapan mengetahui apakah konsentrasi metionin di bawah 50 mg/L mampu mengalami

pertumbuhan organogenesis, dan mengetahui apakah eksplan masih mampu menerima respon pertumbuhan apabila ditanam dalam media dengan penambahan metionin dengan konsentrasi di atas 100 mg/L. Dilakukan perlakuan dengan perbedaan konsentrasi metionin dengan tujuan untuk mengetahui batas konsentrasi metionin yang mampu diterima oleh eksplan dalam melakukan proses pertumbuhan.

Metionin mampu mengaktifkan sitokinin endogen karena S-adenosyl-L-Methionine (SAM) mampu memproduksi S-adenosyl-L-homocystein hydrolase (SAHH). SAHH merupakan transfer metil yang dibentuk oleh SAM. Selain itu SAHH merupakan salah satu jenis protein yang menyusun struktur dari sitokinin. Adanya SAHH menunjukkan peningkatan aktifitas sitokinin 3 kali lipat pada esudat akar, serta terlibat dalam pembelahan sel dan diferensiasi sel (Faure, 1999).

Kekurangan metionin dalam tumbuhan akan menyebabkan kurangnya kandungan protein dalam tumbuhan tersebut. Hal tersebut terkait dengan metionin memiliki kode asam amino AUG yang merupakan start kodon proses sintesis protein. Sebagaimana telah dijelaskan oleh Kumar (2014) yang menyatakan bahwa kurangnya kandungan metionin dalam tumbuhan maka kebutuhan protein yang dibutuhkan oleh hewan maupun manusia tidak akan tercukupi dengan baik. Dari pernyataan tersebut, menunjukkan bahwa metionin memang sangat penting untuk proses sintesis protein dimana protein dalam tubuh tumbuhan sangat dibutuhkan untuk melakukan pertumbuhan dengan baik. Protein itu sendiri



merupakan rangkaian panjang yang terdiri dari asam amino yang bergabung melalui ikatan peptida.

Selain itu metionin juga digunakan sebagai prekursor S-methylmetionin yang digunakan sebagai molekul transport untuk membatasi produksi sulfur. Sulfur harus dibatasi karena apabila suatu tanaman kelebihan sulfur maka pH akan menjadi rendah karena sifat sulfur yang asam, apabila hal tersebut terus berlanjut maka akan menyebabkan daun mudah rontok (Sugimoto, 2017).

Penambahan metionin dalam media kultur jaringan untuk perbanyakan batang bawah jeruk JC diharapkan dapat menghasilkan organogenesis repetitif. Menurut Shan *et al.*, (2005) repetitif terjadi karena perkembangan jaringan meristem yang akan tumbuh menjadi tunas diperlambat dan sebaliknya sel-sel baru yang bersifat meristematik diperbanyak secara berulang yang mengakibatkan terjadinya pembentukan organ baru dengan tingkat multiplikasi yang tinggi. Dalam penelitian Shan *et al.*, (2005) pada tanaman kedelai dihasilkan 300 tunas yang didapat dari 1 gram multiple bud tissue (MBT) dengan menerapkan sistem organogenesis repetitif. Menurut Naing (2013) organogenesis sekunder atau organogenesis repetitif lebih memiliki banyak keuntungan terutama dalam hal perbanyakan atau multiplikasi serta dapat meningkatkan tingkat keseragaman. Menurut Zulkarnain (2009) organogenesis merupakan suatu proses pembentukan tunas adventif atau akar adventif yang berkembang dari dalam massa sel-sel kalus.

Teknik pemotongan eksplan menggunakan teknik TCL (Thin Cells Layer). TCL merupakan teknik pemotongan organ dengan potongan yang tipis. Dalam hal jumlah planlet yang dihasilkan, teknik TCL lebih efektif dibandingkan dengan

penanaman eksplan dalam ukuran yang besar. Hal tersebut dikarenakan ekplan dengan irisan yang tipis, memudahkan proses difusi media ke dalam jaringan (Agisimanto, 2015).

Berdasarkan paparan masalah di atas, penulis melakukan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi metionin terhadap organogenesis somatik repetitif jeruk Japhansce Citroen (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) dengan Teknik Thin Cells Layer (TCL) secara *In vitro*.

### 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu antara lain:

1. Bagaimana pengaruh perbedaan konsentrasi metionin terhadap organogenesis jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.)?
2. Berapakah konsentrasi Metionin yang paling optimal digunakan untuk organogenesis somatik repetitif jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.)?
3. Bagaimana pengaruh metionin terhadap morfologi planlet jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.)?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu antara lain:

1. Untuk mengetahui pengaruh Metionin terhadap organogenesis jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).
2. Untuk mengetahui konsentrasi Metionin yang paling optimal digunakan untuk organogenesis somatik repetitif jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).

3. Untuk mengetahui konsentrasi Metionin terhadap morfologi planlet jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).

#### 1.4 Hipotesis

Hipotesis untuk penelitian ini yaitu antara lain:

1. Terdapat pengaruh Metionin terhadap organogenesis jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).
2. Konsentrasi metionin yang paling optimum untuk pertumbuhan organogenesis tunas repetitif jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.) adalah 75 mg/L.
3. Terdapat pengaruh metionin terhadap morfologi eksplan jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).

#### 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapatkan dalam penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi mengenai pengaruh Metionin terhadap perkembangan embriogenesis tanaman jeruk JC.
2. Memberikan informasi mengenai teknik kultur jaringan tumbuhan khususnya pada tanaman jeruk.
3. Menghasilkan benih batang bawah jeruk JC yang baik.
4. Mampu memproduksi bibit batang bawah jeruk dengan cepat dan hasil yang banyak.
5. Mampu menghasilkan bibit batang bawah jeruk dengan kualitas yang baik.

6. Memberikan hasil yang baik terhadap kualitas buah jeruk hasil panen.
7. Memberikan nilai lebih terkait perekonomian masyarakat dengan menjual hasil panen jeruk dengan kualitas yang baik.

### 1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini yaitu antara lain:

1. Benih tanaman jeruk Japanche Citroen (JC) berasal dari Balai Penelitian Jeruk dan Tanaman Subtropika (Balijestro) kota Batu.
2. Bagian tanaman yang dijadikan eksplan adalah kotiledon dari jeruk JC.
3. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS.
4. Media MS0 digunakan untuk memastikan biji tidak terdapat kontaminasi. Biji ditanam dalam media MS0 selama 4 hari.
5. Media pre-treatment menggunakan media TDZ 1 mg/L (Pramanik, 2010) dan diinkubasi selama 4 hari.
6. Penambahan metionin dalam media terdapat beberapa konsentrasi yaitu 0 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L, 125 mg/L dan 150 mg/L.
7. Pemotongan eksplan menggunakan teknik transversal Thin Cells Layer (tTCL).
8. Parameter yang diamati meliputi persen eksplan berkalus, hari muncul fase globular, jumlah tunas, berat tunas, panjang tunas dan morfologi atau morfologi eksplan selama 2 bulan atau 8 minggu.
9. Analisis data menggunakan analisis varian (ANOVA) kemudian dilanjutkan dengan analisis *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%

apabila terdapat pengaruh perlakuan dengan variabel pengamatan. Kemudian dilakukan analisis regresi untuk mengetahui konsentrasi metionin yang optimal.





## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

#### 2.1 Jeruk Japansche Citroen (JC)

Jeruk dan kerabatnya termasuk ke dalam famili Rutaceae yang meliputi banyak genera. Pada dasarnya, jeruk dapat dikelompokkan menjadi 3 berdasarkan manfaatnya, yaitu (1) Primitif, merupakan jenis jeruk yang belum dimanfaatkan, (2) Kerabat dekat jeruk yang sebagian sudah dimanfaatkan, (3) Jeruk yang sebenarnya, yaitu yang telah dimanfaatkan dan dibudidayakan. Jeruk mempunyai 6 genera yaitu: 1) Citrus, 2) Microcitrus, 3) Fortunella, 4) Eremocitrus, 5) Cymenia, dan 6) Poncirus. Semua genera kecuali Poncirus memiliki daun tunggal, sedangkan Poncirus memiliki daun majemuk atau daun trifoliolate (Tim Mekarsari, 2003).

Citrus merupakan genera yang paling banyak dikenal. Di antara 6 genera tersebut yang paling banyak dikenal adalah dari jenis Citrus. Citrus memiliki dua subgenera yaitu *Citrus* dan *Papeda*. Subgenera Citrus memiliki 10 spesies dan 7 di antaranya telah banyak dibudidayakan serta sampai saat ini telah menjadi jeruk komersial yaitu: 1) *Citrus sinensis* Osbeck (jeruk manis), 2) *C. reticulata* Blanco (jeruk keprok), 3) *C. maxima* Merr (jeruk besar), 4) *C. limon* (jeruk lemon), 5) *C. aurantifolia* (jeruk nipis), 6) *C. paradisi* (grapefruit) (Martasari, 2008).

Menurut Swingle dan Reece (1967) Japansche Citroen (JC) sebenarnya merupakan *Rangpur Lime* atau *Canton Lemon* yang berasal dari India, di Jepang

JC disebut *Hime Lemon*, dan di Brazil disebut *Cravo Lemon*. Klasifikasi jeruk JC disesuaikan dengan klasifikasi USDA (2014):

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Sapindales

Famili : Rutaceae

Sub family : Aurantioideae

Genus : *Citrus*

Species : *Citrus limonia* Osbeck

Kultivar : Japansche Citroen

Jeruk Japansche Citroen (*Citrus limonia* Osbeck) merupakan varietas hybrid yang dihasilkan dari persilangan antara *Citroes nobilis* (keprok) X *Citroes medica* (lemon). Japansche Citroen memiliki karakteristik yang mirip dengan *Rough lemon*, yaitu tahan terhadap kekeringan, dapat merangsang pembentukan buah lebih awal dari biasanya dan menghasilkan produksi tinggi dengan kualitas yang baik. Japansche Citroen peka terhadap *Exocortis* yang merupakan virus penyerang kulit tanaman dan mampu membuat tanaman menjadi kerdil (Sugiyarto, 1994 dan Niyomdham, 1997).

Batang bawah Japansche Citroen memiliki tingkat kompatibilitas yang baik. Hasil penelitian Susanto (2003) menunjukkan penggunaan batang bawah Japansche Citroen bersifat lebih mendorong pertumbuhan vegetatif batang atas dibandingkan *Rangpur Lime* dan *Rough Lemon*. Sedangkan hasil penelitian

Rahayuni dan Hadijah (1996) menunjukkan tanaman yang berbatang bawah Japansche Citroen tumbuh lebih vigor sehingga berukuran lebih besar dibandingkan dengan batang bawah *Rough Lemon*, *Citrus aurantifolia*, *Citrus amblycarpa* dan *Citroen nobilis*.

Menurut Dhita (2011), jeruk Japansche Citroen mempunyai ciri-ciri sebagai berikut: (1) memiliki pohon yang kuat dan bersifat produktif, ukuran pohon sedang, cabangnya menyebar dan merunduk, memiliki duri yang kecil dan sedikit, (2) daun memiliki aroma yang menyengat, berwarna hijau gelap, (3) bunga berukuran kecil hingga sedang, memiliki putik dan kelopak bunga berwarna ungu tua, (4) ukuran buah kecil hingga sedang, apabila buah masak warna kulit buah kekuningan sampai jingga kemerahan, (5) biji berukuran kecil, warna keping biji hijau muda, biji dalam setiap buah terdapat 8-10 biji, (6) tahan terhadap kekeringan, (7) memiliki daya dukung baik terhadap batang atas, sehingga produksi buah juga baik.

Buah jeruk memiliki beragam manfaat mulai dari kulit, buah dan biji Rasulullah SAW bersabda dalam hadis beliau yang berbunyi :

وعن أبي موسى الأشعري رضي الله عنه قال قال رسول الله صلى الله عليه وسلم : مَثَلُ

الْمُؤْمِنِ الَّذِي يَفْرَأُ الْقُرْآنَ، مَثَلُ الْأُتْرَجَةِ، رِيحُهَا طَيِّبٌ وَطَعْمُهَا طَيِّبٌ... [صحيح البخاري ومسلم]

Artinya: “Permisalan seorang mukmin yang membaca *Al-Qur'an* ialah seperti buah jeruk, rasanya manis dan aromanya harum” (HR. Bukhari dan Muslim).

Buah jeruk memiliki manfaat mulai dari kulit, biji dan buahnya. Seperti yang dijelaskan oleh Al Ghafiqi (2003) bahwa memakan daging buah jeruk bermanfaat terhadap wasir (sembelit). Selain itu, biji dari buah jeruk juga memiliki manfaat sebagaimana dituturkan oleh Ibnu Marwaih yang menyatakan

bahwa, “Khasiat bijinya bermanfaat terhadap bisa (racun) yang mematikan dengan cara merendam biji tersebut dalam air hangat. Kemudian air rendaman biji diminum seukuran dua mitsqal (dua timbangan) masing-masing seberat kira-kira 25 gram. Juga sangat bermanfaat apabila biji tersebut dilumat dan diletakkan pada bagian tubuh yang terkena sengatan.” Selain itu, kulit buah jeruk juga sering digunakan sebagai pengharum dan mencegah ngengat datang, karena kulit buah jeruk sendiri mengandung minyak atsiri. Karena berbagai manfaat tersebut, maka tidak heran jika Rasulullah mengibaratkan buah jeruk seperti hadits di atas.



Gambar 2.1 Tanaman Japansche Citroen bersama bunga, buah dan bijinya  
(Sumber: Mulyanto, 2014)

Batang bawah banyak digunakan di Indonesia dengan beberapa keunggulan antara lain terdapat kecocokan dengan batang atas. Batang bawah memberikan pengaruh yang baik terhadap kelangsungan hidup dan produksinya sehingga akan menghasilkan benih yang memiliki kualitas baik (Wahyudi *et al.*, 2017). Sebagaimana Firman Allah SWT dalam Al-Qur'an surat Al-An'am Ayat 99 yang berbunyi :

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ قِنَوانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya : “Dan Dialah yang menurunkan hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak dan dari mayang kurma, tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda (kekuasaan Allah) bagi orang yang beriman.” (Al An’aam: 99).

Menurut tafsir Jalalain (1990) dalam ayat ini mengandung iltifat dari orang ketiga yang menjadi pembicara, yakni dengan air hujan itu ditumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang dapat tumbuh dan dikeluarkan dari tumbuh-tumbuhan tersebut bulir-bulir seperti gandum. Serta pohon kurma yang tunas-tunas buahnya saling berdekatan antara yang satu dengan yang lain. Dan dengan air hujan itu pula telah ditumbuhkan berbagai jenis buah lainnya seperti delima, anggur dan zaitun. Dan apabila telah tiba waktunya, perhatikan keadaannya pada awal munculnya dan setelah matang. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda kekuasaan-Nya bagi orang yang beriman dan mau memikirkannya.

Ahmad Musthafa Al-Maraghi (1993) menjelaskan bahwa Allah yang menurunkan air hujan dari awan. Kemudian dengan air tersebut Allah mengeluarkan tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam bentuk, ciri, khas serta perbedaan tingkatan kelebihan dan kekurangannya. Lalu menjelaskan pula tentang



tanaman yang tidak berbatang kemudian ditumbuhkan tumbuhan yang subur, yang bercabang dari pokok tumbuhan tersebut. Dari tumbuhan yang hijau tersebut kemudian Allah tumbuhkan biji-bijian yang banyak, yang sebagiannya berada di atas sebagian yang lain. Allah juga mengeluarkan dari mayang kurma tangkai-tangkai yang menjulai, dekat untuk dipetik dan mudah untuk diambil. Dan Allah keluarkan pula tumbuh-tumbuhan yang menghijau tersebut kebun-kebun anggur, juga buah zaitun, dan juga delima, baik yang serupa maupun yang tidak dalam sebagian sifatnya maupun hal yang lain. Ia bermacam-macam: serupa dalam bentuk, daun, dan buahnya, tetapi berbeda dalam warna buah dan rasanya, ada yang manis, msam, dan adapula yang pahit.

Allah memerintahkan kepada umat manusia untuk membandingkan sifat-sifatnya itu, agar manusia memahami dan mengetahui dengan jelas kelembutan, pengaturan, dan kebijaksanaan Allah dalam setiap perhitungan-Nya dan lain-lain yang menunjukkan kepada kewajiban untuk mentauhidkan-Nya.

Kalimat *“Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya,”* menunjukkan bahwa Allah memerintahkan untuk memperhatikan keadaan buah ketika telah matang, kualitas buah meliputi rasa, tekstur, dan keadaan fisik buah. Dari karakteristik tersebut maka dapat diketahui apakah buah tersebut memiliki kualitas yang baik atau sebaliknya. Untuk mendapatkan buah dengan kualitas yang baik maka benih yang ditanam juga harus memiliki kualitas yang baik pula.

## 2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan

### 2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan Tumbuhan

Kultur jaringan tumbuhan merupakan teknik pemeliharaan dan perbanyakan tanaman dengan mengambil atau mengisolasi bagian dari suatu tanaman induk yang meliputi batang, daun, akar, bunga, kalus, sel, protoplas dan embrio pada media buatan yang kaya dengan nutrisi dalam kondisi yang steril secara *in vitro* (Zulkarnain, 2009). Kultur *in vitro* merupakan suatu metode isolasi jaringan atau organ dari tanaman di lingkungan yang tidak steril, kemudian ditanam dalam lingkungan yang steril dengan tujuan untuk membentuk tumbuhan yang utuh kembali (Azriati, 2010).

Allah berfirman dalam Al-Qur'an surat Al-An'am ayat 95 yang berbunyi:

﴿إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَىٰ ۖ يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَمُخْرِجُ الْمَيِّتِ مِنَ الْحَيِّ ۚ ذَٰلِكُمْ اللَّهُ فَأَنَّىٰ تُؤْفَكُونَ ۝﴾

Artinya: “Sesungguhnya Allah menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan. Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup (yang memiliki sifat-sifat) demikian ialah Allah, maka mengapa kamu masih berpaling?” (Qs. Al-An'am/ 6:95).

Surat Al-An'am ayat 95 pada kalimat “Allah menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan”. Mujahid berkata, yang dimaksud dengan (al falaq) merupakan proses pembelahan sel yang terjadi pada butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan (Al-Qurtubi, 2009). Kemudian pada lafadh yang artinya “Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati”. Hal tersebut menjelaskan bahwa teknik isolasi sel atau jaringan tumbuhan apabila tidak ditanam dalam media yang cocok hanya akan menjadi sesuatu yang “mati”. Kemudian manusia

sebagai perantara, sel atau jaringan tersebut ditanam dalam media tumbuh yang cocok dan dengan seizin Allah sel atau jaringan tersebut akan kembali hidup menjadi organisme baru.

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan tanaman yang berbiji maupun tanaman yang tidak berbiji. Biji, sel maupun jaringan yang dijadikan eksplan akan mengalami pembelahan sel, pembesaran sel sehingga dari proses tersebut akan membentuk tunas, akar, dan tanaman yang lengkap (Azriati, 2010). Prinsip utama dari kultur jaringan tumbuhan adalah memanfaatkan sifat totipotensi sel tumbuhan. Totipotensi merupakan suatu kemampuan sel untuk membentuk individu baru secara utuh. Penerapan teknik kultur jaringan ini dapat memberikan manfaat, misalnya digunakan untuk upaya konservasi tumbuhan langka, selain untuk keperluan yang berkaitan dengan agrobisnis (Santoso, 2007).

Perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan memiliki beberapa keuntungan apabila dibandingkan dengan perbanyakan menggunakan teknik konvensional. Keuntungan perbanyakan tanaman dengan menggunakan teknik kultur jaringan yaitu (1) jumlah eksplan yang digunakan sedikit (2) jumlah benih yang dihasilkan tidak terbatas (3) tidak membutuhkan waktu yang lama (4) tidak memerlukan lahan yang luas (5) benih yang dihasilkan bebas dari penyakit (6) genotip benih yang dihasilkan sama dengan induknya (Surachman, 2011).

### **2.2.2 Media Kultur Jaringan**

Media kultur merupakan faktor penting yang dapat menentukan keberhasilan kultur jaringan tumbuhan. Dalam media harus mengandung beberapa unsur yaitu antara lain makronutrient, mikronutrient, air, gula, asam amino,

vitamin, dan zat pengatur tumbuh. Media yang digunakan untuk kultur jaringan tumbuhan dimodifikasi sehingga akan menjadi media tanam yang sesuai dengan tanaman dan mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman. Sebagaimana Firman Allah dalam surat Al-Imran ayat 190 yang berbunyi:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَآخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾

Artinya: *“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal.”* (QS. Al- Imran : 190).

Menurut Tafsir Al-Qurtubi (2009) ayat ini merupakan awal penutup surat Al-Imran, dimana dalam ayat ini Allah memerintahkan pada manusia untuk memahami tanda-tanda ke-Tuhanan. Tanda-tanda tersebut tidak mungkin ada kecuali ada yang menciptakan. Dengan meyakini hal tersebut maka keimana mereka bersandarkan atas keyakinan yang benar. Kalimat *“terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal”* Allah telah menciptakan manusia beserta kenikmatan berupa akal. Dalam hal ini manusia diperintahkan menggunakan akal tersebut untuk merenungkan tanda-tanda Allah. Manusia sebagai makhluk ciptaan Allah yang dianugerahi dengan akal maka sudah seharusnya manusia memanfaatkan akal mereka untuk menjaga dan memanfaatkan apa-apa yang ada di bumi untuk kemaslahatannya. Dengan mampu mengatasi masalah yang ada di lingkungan dan memberikan saran yang solutif untuk menyelesaikan masalah yang ada di lingkungan, maka manusia sudah menggunakan akal mereka untuk memikirkan. Kultur jaringan tumbuhan merupakan salah satu solusi yang membutuhkan pemikiran dari manusia. Kultur jarngan tumbuhan mampu

mengatasi masalah yang berkaitan dengan lahan yang sempit namun membutuhkan produksi yang banyak dan waktu yang cepat.

Salah satu wujud nyata penerapan ayat tersebut yaitu manusia mampu menemukan komposisi yang cocok untuk tumbuh suatu tanaman, sehingga saat ini tanaman tidak lagi hanya bisa ditanam pada media tanah, namun dalam media yang telah termodifikasi komposisinya, tanaman juga bisa tumbuh dengan baik. Harapan dari penerapan tersebut yaitu manusia sebagai khalifah di bumi mampu untuk mengembangkan kelestarian di bumi.

Tanaman yang dipelihara dengan teknik kultur jaringan, tidak lagi sepenuhnya hidup secara autotrof. Tanaman yang dikembangkan dengan kultur jaringan hidup secara heterotrof. Kondisi tersebut mengharuskan media yang digunakan harus penuh dengan nutrisi untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman dalam kultur *in vitro* (Santoso, 2007).

Hal lain yang perlu diperhatikan ialah kondisi yang steril baik ruang, alat, maupun bahan eksplan. Semua kegiatan yang dilakukan dengan teknik kultur jaringan harus dilakukan dalam kondisi yang steril untuk menjaga agar tidak terjadi kontaminasi oleh mikroorganisme baik jamur maupun bakteri. Hasil kultur jaringan tumbuhan yang terkontaminasi akan menyebabkan pertumbuhan menjadi terganggu (Santoso, 2007).

### **2.2.3 Macam Kultur Berdasarkan Eksplan yang Digunakan**

Menurut Zulkarnain (2009) dan George (1993) terdapat 5 macam kultur jaringan tumbuhan berdasarkan eksplan yang ditanam antara lain kultur meristem dan tunas, kultur embrio, kultur akar, kultur kalus dan kultur suspensi.



Kultur meristem dimanfaatkan untuk menghasilkan tanaman yang bebas dari virus. Kultur meristem menggunakan eksplan berupa potongan tunas yang kecil, terdiri atas satu kubah meristem dan beberapa primordia daun. Semakin kecil ukuran ekplan yang akan ditanam maka akan semakin efektif untuk menghilangkan virus. Oleh karena itu ukuran eksplan juga perlu diperhatikan untuk keberhasilan eksplan meristem (Zulkarnain, 2009). Apabila kultur meristem, kultur tunas dan kultur nodus berhasil maka akan menghasilkan pertumbuhan tunas kecil. Dengan perlakuan yang tepat, tunas yang kecil tersebut salah satunya akan membentuk akar atau mengalami proses rooting untuk menghasilkan tumbuhan kecil atau disebut planlet (George, 1993).

Zigot atau embrio biji sering digunakan sebagai ekplan untuk kultur jaringan tumbuhan. Kultur embrio ekplan yang digunakan berupa embrio yang sudah dipisahkan dari kulit atau integumennya, embrio yang telah ditanam dan dikecambahkan secara *in vitro* akan menghasilkan satu tanaman untuk satu ekplan yang ditanam. Menggunakan kultur embrio akan membantu mempercepat produksi benih dari benih yang memiliki masa dormansi panjang (George, 1993).

Kultur akar dapat menggunakan eksplan dari ujung akar yang diambil dari akar utama atau cabang akar tanaman. Ekplan yang sesuai adalah eksplan akar yang diiris kecil dari meristem akar utama maupun cabang akar. Kultur akar biasanya menggunakan media White sebagai media tanamnya (George, 1993).

Kalus bisa diinisiasi melalui kultur jaringan dari sebagian kecil eksplan dengan media yang mendukung pertumbuhan dan kondisi yang steril. Dengan menggunakan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan di media tanam, maupun

hormon endogenus, metabolisme sel yang tidak berlangsung akan aktif kembali dan kalus akan mengalami pembelahan sel (George, 1993).

Kultur sel atau suspensi berasal dari inokulum kalus yang remah yang ada di media cair. Dengan menggoyang-goyang media maka antara sel satu dengan sel yang lain akan terpisah. Melalui pembelahan sel, bentuk sel yang bergabung dan membentuk kumpulan maka akan mengalami pemisahan dan membentuk sel individu. Kemampuan sel untuk memisah dalam kultur suspensi rentan terhadap konsentrasi zat pengatur tumbuh di media kultur. Apabila dalam media konsentrasi auksin lebih tinggi dari sitokinin, maka akan meningkatkan kemampuan sel untuk memisah dari sel yang lain (Goerge, 1993). Manuhara (2014) menjelaskan dalam bukunya bahwa apabila kultur sel ditanam dalam media cair kemudian dilakukan penggojogan maka sel-sel tersebut akan berdiferensiasi menjadi sel-sel embriogenik kemudian akan tumbuh tunas dan akar.

#### **2.2.4 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)**

Salah satu penentu keberhasilan kultur secara *in vitro* adalah pengetahuan yang baik tentang kebutuhan unsur hara yang dibutuhkan oleh sel dan jaringan. Unsur hara terdiri dari komponen utaman dan komponen tambahan. Komponen utama dalam media kultur jaringan tumbuhan meliputi garam mineral, gula sebagai sumber karbon, vitamin dan zat pengatur tumbuh. Komponen lain yang mendukung antara lain nitrogen organik, dan berbagai asam organik (Nursetiadi, 2008).

Tumbuhan yang ditanam dengan teknik kultur jaringan, untuk menstimulasi tumbuhnya akar dan tunas maka perlu ditambahkan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang sesuai. ZPT merupakan senyawa kimia yangsi yang dalam konsentrasi rendah mampu mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Situmeang, 2015).

ZPT dibedakan menjadi 5 antara lain sitokinin, auksin, giberelin, asam absisat dan etilen (Zulkarnain, 2009). ZPT jenis sitokinin banyak digunakan untuk merangsang pertumbuhan tunas. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan George *et al* (2008) yang menyatakan bahwa sitokinin yang berperan dalam aktivasi pembelahan sel banyak digunakan untuk menginisiasi pembentukan cabang dan pertumbuhan tunas pada tanaman. Selain untuk pembentukan tunas, sitokinin juga digunakan untuk metabolisme sel (Karjadi dan Buchory, 2008).

Sitokinin alami pada tanaman banyak ditemukan di air kelapa. Air kelapa banyak mengandung beberapa zat termasuk di dalamnya terdapat sitokinin dan auksin (Yong *et al.*, 2009). Sitokinin dibagi menjadi sitokinin alami dan sintetik. Kinetin dan zeatin merupakan jenis sitokinin alami dan beberapa lainnya merupakan sitokinin sintetik. Jaringan meristem terutama pada akar, embrio dan buah merupakan tempat yang banyak memproduksi sitokinin alami. Sitokinin yang diproduksi di akar selanjutnya diangkut oleh xilem menuju sel-sel target pada batang. Ahli biologi tumbuhan juga menemukan bahwa sitokinin dapat meningkatkan pembelahan, pertumbuhan dan perkembangan kultur sel tanaman. Sitokinin juga menunda penuaan daun, bunga dan buah dengan cara mengontrol dengan baik proses kemunduran yang menyebabkan kematian sel-sel tanaman.

Penuaan pada daun melibatkan penguraian klorofil dan protein-protein, kemudian produk tersebut diangkut oleh floem ke jaringan meristem atau bagian lain dari tanaman yang membutuhkannya (Pranata, 2010).

TDZ merupakan salah satu ZPT dari kelompok sitokinin. Sitokinin merupakan senyawa organik yang menyebabkan terjadinya sitokinesis atau disebut dengan pembelahan sel. Sitokinin berfungsi sebagai prekursor pembelahan sel, selain itu sitokinin juga berpengaruh dalam proliferasi tunas aksilar, menghambat pertumbuhan akar serta dapat menginduksi umbi mikro pada kentang (Wattimena, 1998). Dibandingkan dengan kelompok sitokinin yang lain, TDZ memiliki kerja yang lebih efektif (Bollmark, *et al.*, 1988).

Kemampuan multiplikasi tunas dapat pula ditingkatkan dengan menggunakan TDZ. TDZ mampu mendorong terjadinya perubahan sitokinin ribonukleotida menjadi sitokinin ribonukleotida yang secara biologis memiliki kerja yang lebih aktif (Lu, 1993). TDZ memiliki potensi memacu pembentukan tunas adventif pada beberapa jenis tumbuhan karena TDZ mampu mempercepat proses pembelahan sel pada meristem. Senyawa organik tersebut merupakan derivat urea yang tidak mengandung rantai purin yang umumnya dimiliki oleh sitokinin (George, 1984).

Auksin merupakan istilah umum untuk substansi pertumbuhan yang khususnya merangsang perpanjangan sel, tetapi auksin juga menyebabkan suatu kisaran respon pertumbuhan yang agak berbeda-beda. Sejumlah substansi alami menunjukkan aktivitas auksin, tetapi yang dominan yang pertama kali ditemukan dan diidentifikasi ialah Asam Indole Asetat (IAA). IAA terdapat di akar, pada

konsentrasi yang hampir sama dengan dibagian tumbuhan lainnya. Sejak pertama kali dikemukakan pada tahun 1930-an, pemberian auksin memacu pemanjangan potongan akar atau bahkan akar utuh pada banyak spesies tapi hanya pada konsentrasi yang sangat rendah tergantung spesies dan umur tanaman. Pada konsentrasi yang tinggi, pemberian auksin dapat menghambat pertumbuhan akar (Gardner *et al.* , 1991). Auksin adalah salah satu hormon tumbuhan yang tidak lepas dari proses pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman. Senyawa ini dicirikan oleh kemampuannya dalam mendukung terjadinya pemanjangan sel pada pucuk. Auksin alam yang paling umum adalah Asam Indole Asetat (IAA) (Salisbury dan Ross , 1995).

Giberelin yang biasanya disingkat dengan nama GA diisolasi pada tahun 1926 oleh Karosawa dari jenis jamur *Gibberella fujikuroi* atau *Fusarium heterosporum* yang hidup sebagai parasit pada tanaman padi. Jamur ini dapat menyebabkan penyakit bakanae (penyakit kecambah tolol) pada padi, yaitu pertumbuhan batang berlebihan tetapi padi tidak mau berbuah. Dari hasil pengamatan tersebut ternyata jamur memproduksi suatu zat yang dapat meningkatkan pertumbuhan , akhirnya zat aktif tersebut diberi nama giberelin atau disingkat GA (Wilkins, 1989).

Giberelin berfungsi dalam memacu pertumbuhan batang, meningkatkan pembesaran dan perbanyakan sel pada tanaman, sehingga tanaman dapat mencapai tinggi yang maksimal. Sedangkan pengaruh Giberelin terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang paling terkenal adalah perangsangan pertumbuhan antar buku. (Prawiranata, *et al.* , 1981). Gibberelin



mempunyai peranan dalam aktivitas kambium dan pengembangan xylem. GA3 termasuk dalam kelompok Giberelin. Berdasarkan hasil penelitian Bard *et al.* (1970) dalam Weaver (1972) cit Abidin (1994) , menunjukkan bahwa aplikasi GA3 dengan konsentrasi 100, 250, dan 500 mg/L mendukung terjadinya differensiasi xylem pada pucuk olive. Pada penelitian Karismawati (2006) , pemberian zat pengatur tumbuh GA3 dengan konsentrasi 100 mg/L dapat menghasilkan diameter bonggol terbesar pada tanaman Adenium.

Etilen berperan dalam proses pematangan buah. Etilen berfungsi untuk mendukung respirasi, menghambat perpanjangan buah, menstimulasi perkecambahan, mendukung terbentuknya bulu-bulu akar, mendukung proses pembungaan, dan menghambat transformasi auksin. Pemberian konsentrasi etilen yang rendah mampu untuk mendukung pertumbuhan suatu tanaman dan sebaliknya akan menghambat pertumbuhan apabila diberikan dengan konsentrasi yang tinggi (Pranata, 2010).

Asam absisat merupakan hormon inhibitor. Inhibitor merupakan zat yang menghambat pertumbuhan tanaman. Asam absisat sering ditemukan pada proses perkecambahan, pertumbuhan pucuk, atau fase dormansi. Inhibitor memiliki peran yang berlawanan dengan giberelin, karena justru menghambat pertumbuhan batang (Pranata, 2010).

ZPT auksin, giberelin, dan sitokinin tidak bekerja sendiri, melainkan saling berinteraksi. Dengan interaksi ketiga hormon tersebut maka akan membuat pertumbuhan yang seimbang, sesuai dengan yang diharapkan (Pranata, 2010).

## 2.3 Morfogenesis

### 2.3.1 Organogenesis

Menurut Manuhara (2014) teknik kultur jaringan berdasarkan polaritasnya atau arah tumbuhnya terbagi menjadi dua yaitu organogenesis dan embriogenesis. Organogenesis dan embriogenesis merupakan teknik terbentuknya organ-organ baru sampai pada akhirnya membentuk planlet. Proses pembentukan organ pada kultur jaringan tumbuhan disebut dengan morfogenesis. Morfogenesis dapat terjadi melalui dua jalur yaitu jalur organogenesis dan jalur embriogenesis (Pramanik, 2010).

Morfogenesis dibedakan menjadi dua yaitu morfogenesis langsung dan morfogenesis tidak langsung. Morfogenesis langsung terjadi apabila eksplan secara langsung membentuk tunas dan atau akar. Sedangkan morfogenesis tidak langsung terjadi apabila eksplan terlebih dahulu membentuk kalus. Perbanyakan dengan kalus dapat menghasilkan bibit dengan jumlah yang lebih banyak apabila dibandingkan dengan perbanyakan menggunakan tunas, namun perbanyakan dengan kalus membutuhkan waktu yang lebih lama karena terlebih dahulu kalus harus ditanam pada media dengan penambahan sitokinin maupun media dengan penambahan auksin, atau bisa juga media kombinasi antara sitokinin dan auksin untuk membentuk tunas atau akar (Purba, 2017 dan Manuhara, 2014).

Organogenesis merupakan proses diferensiasi yang memiliki sifat unipolar atau hanya memiliki satu arah tumbuh, yang mana eksplan hanya akan membentuk tunas atau akar saja. Dalam proses organogenesis, terjadi dua kali induksi, yaitu induksi pada media dengan penambahan sitokinin untuk

pembentukan tunas kemudian induksi pada media dengan penambahan auksin untuk pembentukan akar (Manuhara, 2014).

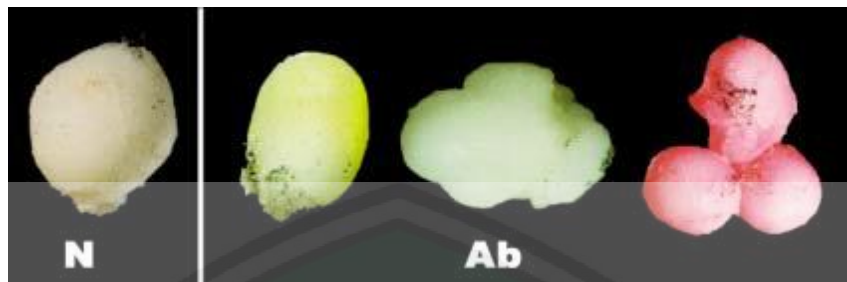
Organogenesis dapat dilakukan pada sel-sel yang bersifat meristematik dan kompeten yaitu sel-sel yang mampu memberi tanggapan terhadap sinyal lingkungan atau hormonal sehingga berakhir dengan terbentuknya organ. Respon tersebut tergantung pada fase dari siklus sel pada sel tersebut yaitu fase G1 (Trigiano dan Gray 2005). Menurut Gahan (2007) terdapat dua faktor yang mempengaruhi kemampuan sel untuk melakukan organogenesis, yaitu 1). tingkat diferensiasi dan spesialisasi dan 2). pengaruh jaringan di dekatnya terhadap ekspresi gen pada sel tersebut. Selain itu, di samping dipengaruhi sinyal lingkungan, zat pengatur tumbuh juga berpengaruh terhadap pengaturan inisiasi dan perkembangan tunas dan akar serta stimulasi pembelahan sel pada eksplan di media kultur (Beyl, 2005).

Zat pengatur tumbuh yang sering ditambahkan dalam media untuk induksi organogenesis adalah auksin dan sitokinin. Peran auksin dalam pertumbuhan tanaman yaitu untuk inisiasi akar, pertumbuhan batang, diferensiasi jaringan vaskuler dan penghambatan senesen pada daun (Srivastava, 2002). Sitokinin berperan pada pembentukan tunas adventif, multiplikasi tunas aksilar dan penghilang pengaruh dominasi apikal. Rasio auksin sitokinin yang tinggi akan merangsang pembentukan akar adventif, rasio sedang akan menginduksi pembentukan akar adventif dari kalus dan inisiasi kalus pada dikotil, sedangkan rasio yang rendah menginduksi pembentukan tunas adventif dan produksi tunas aksiler pada kultur tunas (Gaba, 2005).

### 2.3.2 Embriogenesis

Embriogenesis merupakan proses yang penting dalam pembentukan individu baru. 3 tahap yang terjadi dalam proses embriogenesis yaitu pembentukan embrio, pengumpulan cadangan makanan dalam embrio, kemampuan untuk bertahan dalam kondisi yang kering atau tahan dalam penyimpanan (Umehara, 2007). Embriogenesis adalah bagian dari proses morfogenesis dimana embriogenesis memiliki sifat bipolar yang mana dalam satu eksplan akan membentuk dua arah pertumbuhan yaitu bakal tunas dan bakal akar dalam waktu yang relatif sama (Manuhara, 2014).

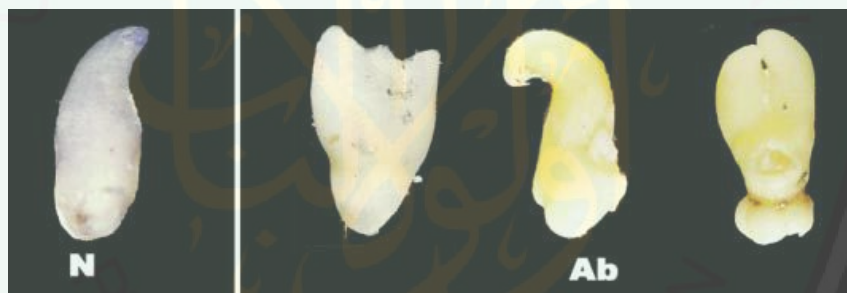
Embriogenesis zigotik dan embriogenesis somatik memiliki tahapan perkembangan yang sama yaitu bulat (globular), jantung (heart), torpedo, dan akhirnya berkecambah menjadi planlet (Zulkarnain, 2009 dan Manuhara, 2014). Tahapan-tahapan tersebut dijelaskan oleh George (1993) sebagai berikut: (1) Pro embrio merupakan kumpulan sel meristem yang berukuran kecil yang mana embrio somatik akan muncul (2) Tahap globular merupakan kumpulan besar sel yang belum memiliki embrio (3) Tahap heart terbentuknya 3 lobus dimana kotiledon awal dipisahkan dari kutub akar (4) Tahap torpedo merupakan perpanjangan dari tahap heart (5) Planlet terlihat benih kecil dengan akar dan tunas utama.



Gambar 2.2 Fase Globular (Sumber: Sianipar *et al*, 2007).



Gambar 2.3 Fase Heart (Sumber: Sianipar *et al*, 2007).



Gambar 2.4 Fase Torpedo (Sumber: Sianipar *et al*, 2007).

Terdapat dua jenis embriogenesis, yaitu embriogenesis zigotik dan embriogenesis somatik. Embriogenesis zigotik merupakan embrio yang berkembang dari penyatuan gamet jantan dan gamet betina. Tahapan untuk menjadi embrio sama dengan tahapan embriogenesis somatik yakni oktan, globular, awal hati, hati, torpedo, dan embrio dewasa (Zulkarnain, 2009). Manuhara (2014) menjelaskan bahwa pertumbuhan dan perkembangan embrio zigotik berlangsung melalui beberapa tahapan yang identik dengan tahapan yang terjadi dalam proses pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik.



Embriogenesis somatik merupakan regenerasi tanaman melalui pembentukan embrio yang berasal dari sel somatik, secara fisiologis maupun morfologi embrio somatik memiliki tahapan yang sama dengan embrio zigotik (Kosmiatin, 2014). Embriogenesis somatik menggambarkan jalur perkembangan yang unik yang mana di dalamnya terdapat beberapa tahap karakteristik yaitu dediferensiasi sel, pembelahan sel, metabolisme dan pola ekspresi gen (Sadeq, 2014).

Embriogenesis somatik diambil dari bagian vegetatif tanaman induknya seperti daun, batang, akar dan bunga yang kemudian di kultur dalam media steril secara *in vitro* (Devy, 2014). Embrio somatik bisa berkembang secara langsung dari sel somatik, bisa juga berkembang secara tidak langsung dari kumpulan kalus saat mengkultur sel, jaringan, maupun organ dari tanaman (Sadeq, 2014).

Embrio somatik pada proses embriogenesis somatik terbentuk saat eksplan membentuk sel-sel baru, badan globular, heart, torpedo dan kotiledon sampai planlet yang terbentuk pada fase tumbuh kalus embrionik, diferensiasi, dan regenerasi (Devy, 2014). Embrio somatik terbentuk dari sel somatik atau gamet dan bukan dari zigot, embrio somatik juga disebut dengan embrio adventif, untuk perkembangan selanjutnya, embrio akan tumbuh menjadi tanaman yang utuh dengan tahapan yang identik dengan embriogenesis zigotik (Yuliarti, 2010).

Selain teknik organogenesis, teknologi perbanyakan yang telah berkembang adalah menggunakan teknik somatik embriogenesis (SE). Melalui teknik ini, embrio tanaman dapat diperoleh tanpa melakukan persilangan

tanaman. Teknik ini biasanya dilakukan untuk memperoleh embrio zigotik atau benih (Thorpe, 1996).

Keuntungan dari embriogenesis somatik adalah embrio somatik yang dihasilkan bersifat bipolar, yang mana dalam embrio tersebut terdapat 2 arah tumbuh yakni tumbuh membentuk akar dan tunas yang digunakan untuk pertumbuhan tanaman secara lengkap dalam waktu relatif sama (Naing, 2013). Kultur-kultur yang bersifat embriogenik akan menghasilkan embrio yang banyak dalam satu wadah kultur, hasilnya akan lebih banyak jika dibandingkan pucuk-pucuk majemuk yang diregenerasikan melalui organogenesis (Zulkarnain, 2009).

Menurut George (1993) embriogenesis somatik dibagi menjadi 2 macam, yaitu embriogenesis somatik langsung, embriogenesis somatik tidak langsung. Namun pada beberapa penelitian menyebutkan bahwa terdapat satu jenis lagi tipe embriogenesis somatik yaitu embriogenesis somatik repetitif.

Embriogenesis langsung merupakan pembentukan embrio somatik tanpa melalui fase kalus. Embriogenesis langsung secara *in vitro* lebih sering menggambarkan kejadian yang terkait erat dengan gametofit seperti pada jaringan gametofit dan jaringan sporofit (George, 1993). Embriogenesis secara langsung, embrio berkembang secara langsung yang berasal dari jaringan tumbuhan (Naing, 2013).

Embrio somatik bisa diproduksi secara tidak langsung dalam kultur jaringan. Embrio somatik tidak langsung berasal dari kalus yang selnya tidak mengalami diferensiasi atau melalui kultur suspensi (Naing, 2013). Sel-sel pada kalus harus melalui jalur embriogenesis untuk bisa terbentuk embrio. Eksplan

yang diambil bisa berupa sel tumbuhan yang telah terdiferensiasi, misalnya batang atau daun (George, 1993).

Repetitif embrio somatik bisa juga disebut dengan embriogenesis somatik sekunder yang merupakan proses terbentuknya embrio somatik baru yang berasal dari embrio somatik (Raemakers, 1995). Embriogenesis somatik sekunder lebih memiliki banyak keuntungan terutama dalam hal perbanyakan atau multiplikasi serta dapat meningkatkan tingkat keseragaman (Naing, 2013). Terdapat kesamaan yang jelas antara embriogenesis sekunder dan proliferasi pro-embrio seperti nodul pada kalus embriogenik (Jain, 1995).

Embriogenesis repetitif sering kali terjadi secara spontan dalam media induksi. Ketika disubkultur secara teratur setiap 4 minggu, embriogenesis repetitif dapat tetap tumbuh tanpa kehilangan kemampuan regenerasi (Jain, 1995). Penelitian Mariani (2003) mengenai embriogenesis somatik pada bawang putih (*Allium sativum*), menunjukkan bahwa embriogenesis somatik repetitif merupakan embrio somatik sekunder yang terbentuk dari embrio somatik yang pertama.

Embriogenesis repetitif berbeda dengan organogenesis repetitif berdasarkan sifat polarisasinya. Embriogenesis repetitif bersifat bipolar atau memiliki dua arah tumbuh yang akan tumbuh menjadi tunas dan akar. Sedangkan organogenesis repetitif hanya memiliki satu arah tumbuh atau bersifat unipolar yang akan tumbuh ke arah pembentukan tunas saja atau akar saja (Franklin dan Dias, 2006).

Terdapat 2 Faktor yang mempengaruhi embriogenesis menurut George (1993) yaitu bahan eksplan dan zat pengatur tumbuh. Eksplan yang berasal dari jaringan dari bagian yang berbeda dalam satu tanaman atau dari eksplan yang

sama yang diambil dari genotip yang berbeda, dengan keseragaman yang jelas dapat mempengaruhi proses embriogenik.

Kalus embriogenik tertinggi sesekali diproduksi oleh eksplan yang dikulturkan pada media yang sederhana yakni media tanpa penambahan pengatur pertumbuhan. Terdapat juga induksi embriogenesis dari jaringan biasanya memerlukan tempat atau media yang ditambahkan auksin.

#### 2.4 Thin Cells Layer (TCL)

TCL merupakan irisan tipis yang dihasilkan dari potongan organ. Organ yang digunakan untuk TCL adalah organ yang bersifat embriogenik yang apabila dilakukan perbanyakan secara konvensional, organ tersebut ditanam secara utuh. TCL berdasarkan arah potongan dibagi menjadi dua yaitu transversal TCL (melintang) dan longitudinal TCL (memanjang) (Dobránszkia & Teixeira-da-Silva, 2011).

Penggunaan eksplan TCL lebih efektif untuk perbanyakan benih dibandingkan dengan penggunaan eksplan yang berukuran besar. Eksplan TCL akan menghasilkan planlet yang lebih banyak, hal tersebut dikarenakan eksplan yang tipis memudahkan proses kontak dan difusi media ke jaringan tumbuhan (Steinmacher *et al.*, 2007).

Berdasarkan arah potongan, irisan tipis dapat dilakukan secara transversal (melintang) (tTCL) dan longitudinal (memanjang) (lTCL). Pada irisan tTCL, eksplan akan terdiri atas sejumlah sel yang berasal dari berbagai jaringan yaitu epidermis, kortikal, kambium, parenkim, perivaskular dan medular. Sementara

ITCL hanya berisi satu jenis jaringan, seperti monolayer sel epidermis (Teixeira-da-Silva & Dobranzki, 2013).

Penggunaan TDZ mampu mendorong pembentukan tunas adventif pada eksplan, dan perlu diiringi dengan penggunaan eksplan thin cell layer untuk hasil yang lebih baik. Potongan eksplan yang tipis akan memperbanyak jumlah bahan tanam menambah luas ruang tumbuh tunas adventif maupun embrio somatik (Agisimanto, 2015).

## **2.5 Peran dan Fungsi Asam Amino dalam Kehidupan Tumbuhan**

Salah satu faktor keberhasilan pertumbuhan dan perkembangan tanaman di dalam kultur jaringan ialah media tanam. Komposisi media tanam kultur jaringan harus menyediakan unsur-unsur yang diperlukan oleh tanaman selama proses pertumbuhan dalam kultur jaringan. Asam amino menjadi salah satu unsur yang dibutuhkan dalam media kultur jaringan. Asam amino merupakan salah satu unsur yang ditambahkan dalam media kultur jaringan, unsur ini merupakan sumber yang cepat diserap oleh tanaman. Dalam hal ini asam amino juga memiliki peran sebagai aktivator fitohormon dan zat pertumbuhan (Fitriani *et al.*, 2015).

Penelitian Asad *et al.*, (2009) penambahan glisin dengan konsentrasi 0,75 mM menghasilkan jumlah tunas tebu terbanyak yaitu 14 tunas per kalus. Penelitian lain menunjukkan pertumbuhan *Rosa centifolia* terbaik dengan variabel jumlah tunas yang mengering dan tunas yang segar ditunjukkan oleh perlakuan media yang ditambahkan dengan asparagin 9 mg/L dengan jumlah tunas yang mengering paling rendah yakni 6,667 dan jumlah tunas yang segar berjumlah



paling banyak yakni 93,33. Asam amino yang digunakan dalam penelitian tersebut yaitu glutamin asparagin dan prolin (Akhtar *et al.*, 2016).

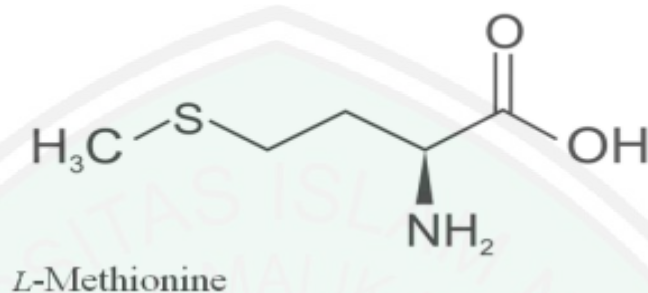
### 2.5.1 Metionin

Metionin merupakan salah satu jenis dari Asam Amino. Metionin berasal dari tiga gugus konvergen yaitu antara lain karbon yang berasal dari aspartat, atom sulfur yang berasal dari sistein, dan gugus metil yang berasal dari  $\beta$  – karbon serin. Metionin selain berfungsi fungsi untuk membantu dalam proses sintesis protein, metionin juga berperan dalam membantu proses pertumbuhan dari suatu tumbuhan. Metionin dengan cepat memacu S-adenosylmetionin, yang mana memegang banyak peran sebagai pemberi kelompok methyl pada reaksi transmethilasi dan sebagai penengah antara proses biosintesis poliamina dan proses terbentuknya fitohormon etilen (Zemanova, 2014).

Menurut Druart (1988) metionin yang ditambahkan dalam media kultur jaringan dengan konsentrasi 50 mg/L- 100 mg/L mampu menjadi prekursor sitokinin. Hal tersebut dikarenakan S-adenosyl-L-methionine (SAM) mampu menghasilkan S-adenosyl-L-homocystein hydrolase (SAHH). SAHH merupakan suatu protein yang mana protein tersebut merupakan salah satu protein yang menyusun struktur dari sitokinin. Adanya SAHH menunjukkan peningkatan aktifitas sitokinin 3 kali lipat pada eksudat akar serta terlibat dalam pembelahan sel dan diferensiasi sel (Faure, 1999).

### 2.5.2 Struktur Metionin

Struktur dari Metionin yaitu sebagai berikut (Willke, 2015) :



Gambar 2.5 struktur Metionin

Metionin terdiri dari 2 isomer, yaitu L- dan D-metionin, yang mana bentuk L lebih banyak berada di alam. Kedua bentuk tersebut dapat dimetabolisme di hewan oleh DL-, yang mana proses tersebut penting untuk pengaplikasian sintesis kimia DL-metionin sebagai pensuplai tambahan di industri peternakan. Beberapa penelitian sejak 1943 menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata dalam penggunaan L-metionin maupun D-metionin (Willke, 2015).

Sintesis metionin dikatalis oleh Cystathionine  $\gamma$ -synthase (CGS) diikuti oleh cystathionine  $\beta$ -Lyase (GBL) dan metionin synthase (MS). Metionin mengalami katabolisme menjadi  $\alpha$ -ketobutyrate dan methanethiol, yang mana masing-masing menjadi prekursor untuk biosintesis isoleusin dan pathogen secara berkala pada bakteri di tanaman, dan amonia oleh metabolisme metionin (Sugimoto, 2017).

Biosintesis Metionin pada tumbuhan yang menjadi penghubung sintesis threonine dan Metionin adalah O-Phosphohomoserine (OPH) yang mana mewakili substrat umum untuk threonine syntase (TS) dan Cystathionine gamma

syntase (Cgs). OPH secara langsung diubah menjadi threonine oleh TS atau melalui mekanisme tiga langkah yaitu Metionin melalui kondensasi dari sistein dan OPH menjadi cystathionine yang selanjutnya diubah menjadi homosistein dan kemudian diubah menjadi Metionin oleh enzim Metionin syntase (MS). Hasil akhir dari biosintesis Metionin adalah 20% protein dan 80% SAM (Hesse, 2004).

SAM merupakan hasil akhir biosintesis metionin yang mampu menghasilkan SAHH yang merupakan transfer metil. SAHH merupakan salah satu protein yang menyusun susunan protein dari sitokinin. Oleh karena itu metionin mampu menjadi prekursor sitokinin endogen (Faure, 1999).

### **2.5.3 Peran dan Fungsi Fisiologis Metionin**

Metionin adalah salah satu dari dua asam amino proteinogenik atau asam amino yang terdapat dalam molekul protein. Metionin merupakan asam amino yang mengandung sulfur yang sangat penting untuk kehidupan tanaman. Sulfur bertanggung jawab atas ikatan disulfida yang mana berfungsi sebagai pengatur kestabilan protein struktur tersier. Kandungan metionin tertinggi sekitar 5 mg/L dapat ditemukan di albumin, terutama albumin telur yang termasuk dalam protein larut dalam air (globulin) (Willke, 2015).

Kebanyakan tanaman, jamur dan bakteri dapat mensintesis metionin dari karbohidrat, nitrogen organik maupun nitrogen anorganik dan sumber belerang. Namun binatang dan manusia bergantung pada sumber metionin yang disediakan secara eksternal dari apa yang dikonsumsi (Willke, 2015).

Metionin juga digunakan sebagai prekursor S-methylmetionin yang digunakan sebagai molekul transport untuk mengurangi belerang (sulfur)

(Sugimoto, 2017). Menurut Abidin (1994) belerang diserap dalam bentuk  $\text{SO}_4$ , antara lain dijadikan aneurin, biotin, persenyawaan asam amino yang ada belerangnya misalnya sistein dan metionin.

Perkembangan teknologi DNA rekombinan, kultur jaringan tumbuhan dan regenerasi secara *in vitro* mengembangkan cara baru dengan meningkatkan kadar asam amino esensial, termasuk metionin. Lima hal penting dari metionin untuk fungsi metabolik, antara lain untuk proses trans-methylation untuk pembentukan donor methyl primer, S-adenosylmetionin (SAM) yang merupakan senyawa methyl untuk membentuk kreatin dan phosphatidylcholine, selama produksi kreatin dan phosphatidylcholine, homosistein methyl juga terbentuk. SAM juga mempengaruhi sintesis DNA dan memperbaiki ekspresi gen, perpindahan sulfur untuk membentuk sistein, yang mana menggabungkan glutathione atau dikatabolisme menjadi taurin, sintesis protein, metionin juga bisa masuk ke badan melalui re-methylation dari homosistein atau kerusakan protein, metionin mampu mempercepat kerja hormon sitokinin, metionin juga mampu menjadi prekursor pembentukan hormon etilen (Kumar, 2014 dan George, 1993). Metionin juga merupakan start kodon dalam proses sintesis protein, karena memiliki 3 kodon AUG yang merupakan kodon awal dalam proses sintesis protein. Apabila dalam tubuh tumbuhan kekurangan metionin maka akan menyebabkan terganggunya pembentukan protein, sehingga pembentukan organ tumbuhan juga akan mengalami masalah atau terganggu (Jusuf, 2001).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan 1 faktorial yaitu pemberian berbagai konsentrasi Metionin pada media MS eksplan embrio jeruk JC. Faktor Metionin dengan 7 taraf atau perlakuan yaitu 0 mg/L (M0), 25 mg/L (M1), 50 mg/L (M2), 75 mg/L (M3), 100 mg/L (M4) 125 mg/L (M5), 150 mg/L (M6), setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali, jadi total terdapat 35 unit percobaan. Uji lanjut untuk penelitian menggunakan Analisis Varian (ANAVA) kemudian dilanjutkan dengan uji DMRT 5% dan analisis regresi.

#### **3.2 Variabel Penelitian**

Variabel dalam penelitian ini meliputi antara lain:

1. Variabel bebas : perbedaan konsentrasi Metionin pada media MS
2. Variabel terikat : jumlah kalus yang tumbuh, hari tumbuh fase globular, jumlah tunas, berat planlet dan panjang tunas.

#### **3.3 Waktu dan Tempat**

Penelitian yang berjudul “Pengaruh Konsentrasi Metionin terhadap Organogenesis Somatik Repetitif Jeruk Japhance Citroen (JC) (*Citrus limonia* Osbeck.) dengan Teknik Thin Cells Layer (TCL)” mulai dilaksanakan pada bulan



Mei sampai bulan Agustus tahun 2018. Proses inisiasi sampai pengamatan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Jeruk dan Buah Sub Tropika (Balitjestro).

### 3.4 Alat dan Bahan

#### 3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan untuk sterilisasi alat antara lain oven, ember, autoklaf, penyikat, spons, plastik. Pembuatan media membutuhkan alat antara lain timbangan analitik, mikropipet, kompor, panci, pengaduk, *hotplate stirrer*, gelas beaker, cawan petri, *pH meter*, tabung erlemeyer, labu ukur. Alat yang dibutuhkan untuk sterilisasi media adalah autoklaf. Sterilisasi ruang tanam (LAF) membutuhkan alat antara lain *hand sprayer* dan tisu. Untuk persiapan bahan eksplan (jeruk JC) membutuhkan alat antara lain gunting pangkas dan alat-alat perawatan di lapang. Tahap inisiasi membutuhkan alat antara lain pinset, *scalpel*, *blade*, bunsen, LAF, *hand sprayer*, cawan petri, botol kultur dan korek api.

#### 3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk sterilisasi alat yaitu antara lain clorox (bayclin), air dan sabun. Untuk pembuatan media bahan yang dibutuhkan antara lain MS stok yang terdiri dari larutan Ferrum, Nitrate, Sulfur, Fosfor, halida dan vitamin, myoinositol, gula, agar-agar, aquades, HCl, NaOH, TDZ, Metionin. Sterilisasi media membutuhkan air untuk mengisi autoklaf, aluminium foil, plastik, karet, dan plastik wrap. Untuk sterilisasi ruang tanam membutuhkan alkohol 70%. Persiapan bahan untuk eksplan, bahan yang dibutuhkan antara lain

benih jeruk JC, obat hama dan penyakit, air dan pupuk. Untuk tahap inisiasi membutuhkan bahan antara lain eksplan jeruk JC, media MS0, media MS+TDZ, media MS+Metionin, alkohol 70%, alkohol 96%, clorox, spirtus.

### **3.5 Langkah Kerja**

#### **3.5.1 Sterilisasi Alat**

Langkah kerja untuk sterilisasi alat-alat kultur jaringan yaitu antara lain :  
bak ukuran besar diisi dengan air sebanyak 20 liter, kemudian desinfektan (Bayclin) ditambahkan sebanyak 200 ml (10 ml/L). Campuran air dan bayclin kemudian diaduk hingga merata kemudian botol-botol kultur dan cawan petri direndam dalam campuran air tersebut. Botol-botol kultur dan cawan petri dibiarkan terendam selama 2 hari, setelah direndam selama 2 hari kemudian leher botol bagian luar digosok dengan penggosok aluminium. Setelah bekas selotip maupun label bersih kemudian botol digosok dengan penggosok yang lebih halus (spons) yang sudah diberi sabun. Cawan petri cukup digosok dengan spons yang sudah diberi sabun. Setelah seluruh bagian botol dan cawan petri digosok dengan menggunakan sabun kemudian botol dan cawan petri dibilas dengan air mengalir sampai bersih dari sisa sabun. Botol yang telah bersih kemudian ditiriskan, setelah kering botol dioven selama 10 menit. Cawan petri yang sudah kering kemudian dimasukkan ke dalam plastik besar dengan masing-masing plastik bersisi 25 cawan petri. Cawan petri yang sudah dimasukkan ke dalam plastik kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf. Setelah proses sterilisasi dengan autoklaf selesai kemudian cawan petri disterilisasi dengan sterilisasi kering

menggunakan oven. Botol dan cawan petri yang telah steril disimpan dalam tempat penyimpanan.

### 3.5.2 Pembuatan Media

#### 1. Media MS0 (Media Pendahuluan)

Langkah kerja pembuatan media MS0 yaitu antara lain menyiapkan stok untuk media yaitu fosfat, nitrate, sulfat, halida, dan ferrum dengan takaran 10 ml/L sedangkan untuk vitamin membutuhkan 2 ml/L dan myoinositol sebanyak 250 mg/L. Setelah bahan stok untuk media sudah siap kemudian menimbang gula sebanyak 30 gr/L dan yang terakhir adalah agar-agar sebanyak 10 mg/L. Setelah semua bahan siap sesuai takaran kemudian semua bahan dimasukkan ke dalam gelas beaker kecuali agar-agar. Kemudian semua bahan yang sudah dimasukkan ke dalam gelas beaker ditambahkan aquades dan dihomogenkan dengan menggunakan *hotplate stirrer*. Setelah homogen, kemudian dimasak sampai mendidih dan dimasukkan kembali ke dalam gelas beaker kemudian ditambahkan aquades sesuai dengan media yang dibuat. Setelah itu diukur pH media menggunakan *pH meter* dengan pH 5,7 sampai 5,8. Setelah pH sesuai kemudian media dimasak lagi dan ditambahkan agar-agar, diaduk-aduk sampai media mendidih. Setelah media matang kemudian dituang ke dalam botol kultur sebanyak 10 ml. Botol kultur kemudian ditutup dan siap untuk disterilisasi menggunakan autoklaf.

## 2. Media MS+Thidiazuron (TDZ) (Media Pre-Treatment)

Langkah kerja pembuatan media MS + TDZ yaitu antara lain menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan untuk membuat media yaitu, gula 30 gr/L, MS stok yang terdiri dari fosfat, nitrate, sulfat, halida, dan ferrum dengan takaran 10 ml/L sedangkan untuk vitamin membutuhkan 2 ml/L dan myoinositol sebanyak 250 mg/L, untuk agar-agar dibutuhkan sebanyak 10 gr/L semua bahan ditimbang sesuai dengan takaran yang dibutuhkan. Setelah semua bahan ditimbang dan diukur kemudian gula dan MS stok dilarutkan dengan aquades secukupnya. Larutan MS stok dan gula dihomogenkan menggunakan *hotplate stirrer*. Setelah MS stok dan gula homogen, kemudian dimasak hingga mendidih. Setelah mendidih larutan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam gelas beaker dan ditambahkan aquades sampai batas volume media yang dibuat. Setelah itu kemudian diukur pH media menggunakan *pH meter* sampai mencapai pH 5,8. Setelah pH sesuai kemudian media dituang ke dalam tabung erlenmeyer dan ditambahkan dengan agar-agar. Kemudian larutan media dihomogenkan menggunakan *hotplate stirrer*. Setelah media homogen kemudian tabung erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil kemudian ditutup lagi menggunakan plastik dan dirapatkan dengan karet gelang, setelah itu dirapatkan dengan plastik wrap. Setelah media siap kemudian media disterilisasi dengan autoklaf. Setelah proses sterilisasi selesai kemudian media ditunggu sampai suhunya turun. Cawan petri, mikropipet dan larutan TDZ dimasukkan ke LAF sambil menunggu suhu

media turun. Setelah suhu turun kemudian media dimasukkan ke dalam LAF. Tutup tabung erlenmeyer dibuka dan disterilkan bagian mulut erlenmeyer dengan pistol api atau *fire gun*. Kemudian media ditambahkan TDZ sebanyak 1 mg/L atau sebanyak 20 µL. Setelah itu erlenmeyer ditutup kembali dengan penutup yang sama dan media dihomogenkan menggunakan *hotplate stirrer* selama 1 menit. Setelah itu media dimasukkan kembali ke LAF dan media dituang ke dalam cawan petri. Setelah semua media dituang ke cawan petri kemudian cawan petri dirapatkan dengan menggunakan plastik wrap. Setelah selesai media TDZ diberi label dan disimpan di tempat penyimpanan.

### 3. Media MS + Metionin (Media Perlakuan)

Langkah kerja untuk pembuatan media MS dengan penambahan konsentrasi Metionin antara lain menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan untuk membuat media, yaitu MS stok yang terdiri dari fosfat, nitrate, sulfat, halida, dan ferrum dengan takaran 10 ml/L sedangkan untuk vitamin membutuhkan 2 ml/L dan myoinositol sebanyak 250 mg/L, gula sebanyak 30 gr/L dan agar-agar sebanyak 10gr/L. Konsentrasi Metionin yaitu 25 mg/L atau sebanyak 6,25 ml, 50 mg/L atau sebanyak 12,5 ml, 75 mg/L atau sebanyak 18,75 ml, 100 mg/L atau sebanyak 25 ml, untuk konsentrasi 125 mg/L larutan metionin yang diambil sebanyak 31,25 ml dan konsentrasi 150 mg/L larutan metionin yang diambil sebanyak 37,5 ml. Metionin diambil dari stok metionin sebesar 2000 mg/L. Untuk masing-masing perlakuan membuat media sebanyak 500 ml. Setelah



semua bahan ditakar dan ditimbang kemudian semua bahan kecuali agar-agar dicampur dalam gelas beaker dan ditambahkan aquades secukupnya. Masing-masing media perlakuan diberi label. Masing-masing campuran dihomogenkan menggunakan *hotplate stirrer* secara bergiliran dengan media perlakuan yang lain. Setelah homogen, media dimasak sampai mendidih dan ditambahkan aquades sampai batas volume media yang dibuat. Setelah itu diukur pH media menggunakan *pH meter*. Setelah pH sudah sesuai kemudian media dimasukkan dalam tabung erlenmeyer dan ditambahkan agar-agar, dan dihomogenkan. Tabung erlenmeyer ditutup rapat menggunakan aluminium foil, plastik dan plastik wrap. Setelah itu media disterilkan dengan menggunakan autoklaf. Setelah proses sterilisasi kemudian media MS+Metionin dimasukkan ke dalam LAF beserta cawan petri dan *fire gun* atau pistol api. Setelah itu media dituang ke dalam cawan petri dan diberi label pada masing-masing perlakuan. Setelah proses menuang selesai kemudian cawan petri dirapatkan dengan plastik wrap. Setelah semua diwrap kemudian media disimpan dalam tempat penyimpanan.

### 3.5.3 Sterilisasi Ruang Tanam

#### 1. Sterilisasi Ruang Tanam

Langkah kerja untuk sterilisasi ruangan yaitu antara lain lantai ruangan atau laboratorium disapu dan dinding dibersihkan dari debu. Setelah bersih, kemudian lantai dipel menggunakan desinfektan. Setiap

sebelum memulai kegiatan dan selesai melakukan kegiatan di laboratorium, lantai disapu dan dipel.

## **2. Sterilisasi LAF**

Langkah kerja untuk sterilisasi LAF yaitu antara lain UV dinyalakan terlebih dahulu sebelum memulai menggunakan autoklaf selama 30 menit. Setelah 30 menit, UV dimatikan kemudian blower dan lampu dinyalakan. Kemudian dinding dan meja LAF disemprot dengan alkohol 70% dan dilap dengan tisu. LAF siap untuk digunakan.

### **3.5.4 Persiapan Bahan Eksplan**

Langkah kerja untuk persiapan bahan eksplan antara lain benih jeruk JC ditanam dan diberikan perawatan di Balai Penelitian Jeruk dan Tanaman Subtropika (Balijestro). Benih jeruk JC yang telah ditanam ditunggu sampai berbuah. Setelah berbuah, buah dipetik dan dipilih yang berumur 60-80 hari.

### **3.5.5 Tahap Inisiasi**

#### **1. Sterilisasi Jeruk JC**

Setelah dilakukan proses pengambilan buah jeruk JC dari kebun kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan proses sterilisasi sebelum dimasukkan dalam LAF. Langkah kerja untuk proses sterilisasi buah jeruk JC yaitu antara lain kulit luar jeruk JC dicuci dan disikat sampai bekas penyakit oleh hama hilang. Setelah itu jeruk dicuci dengan sabun dan dibilas hingga bersih. Setelah kulit buah jeruk bersih, kemudian diangin-anginkan supaya jeruk kering. Setelah buah jeruk kering, kemudian dimasukkan ke dalam LAF.

## 2. Eksplanting Jeruk JC

Buah jeruk yang sudah bersih dan diangin-anginkan ditunggu sampai kering. Sambil menunggu buah kering alat-alat dan bahan yang akan diperlukan untuk eksplanting biji jeruk dimasukkan ke dalam LAF. Jeruk yang telah bersih dan kering kemudian dimasukkan ke dalam LAF. Setelah semua alat dan bahan siap kemudian dilakukan proses eksplanting. Proses eksplanting dimulai dengan cara mengiris bagian tengah secara melingkar. Biji jeruk kemudian diambil menggunakan pinset dan diletakkan di botol balsam. Biji jeruk JC kemudian disterilisasi dengan merendamnya dalam alkohol 96% selama 10 detik kemudian dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali. Setelah sisa alkohol bersih kemudian biji jeruk JC direndam dalam clorox (Bayclin) selama 10 detik dan dibilas dengan menggunakan aquades steril sebanyak 3 kali. Setelah biji jeruk JC steril, kemudian biji jeruk ditanam dalam media MS0. Penanaman biji jeruk dalam media MS0 bertujuan untuk memastikan biji jeruk tidak terkontaminasi bakteri atau jamur. Biji jeruk yang sudah tertanam di media MS0 kemudian disimpan dalam ruang inkubasi selama 4 hari.

## 3. Penanaman pada media MS0+TDZ

Biji jeruk yang sudah ditanam di dalam media MS0 selama 4 hari kemudian disubkulturkan ke dalam media MS0 dengan penambahan 1 mg/L TDZ. Penanaman di TDZ sebagai *pretreatment* bertujuan untuk memacu kerja jaringan tumbuhan sebelum ditanam di media perlakuan.

Langkah kerja untuk penanaman kotiledon pada media MS+1 mg/L TDZ yaitu antara lain kulit biji-biji jeruk dikupas sehingga tinggal kotiledonnya. Kemudian kotiledon jeruk JC ditanam dalam media MS+1 mg/LTDZ. Setelah semua tertanam kemudian disimpan di ruang inkubasi selama 4 hari.

#### **4. Penanaman pada Media Perlakuan**

Kotiledon yang sudah ditanam di media MS dengan tambahan 1 mg/L TDZ selama 4 hari kemudian di subkultur ke media perlakuan yaitu beberapa konsentrasi metionin. Penanaman di media perlakuan dilakukan dengan tahapan antara lain kotiledon yang telah ditanam di media MS+TDZ selama 4 hari dan tidak terkontaminasi dipisahkan dari embrio zigotiknya kemudian kotiledon dipotong dengan teknik Thin Cells Layer (TCL) dengan ukuran 1 mm. Setelah kotiledon terpotong dengan ukuran 1 mm kemudian ditanam pada media perlakuan, masing-masing media berisi 4 sampel. Masing-masing sampel terdiri dari 10 eksplan atau potongan. Setelah semua media perlakuan ditanami dengan eksplan jeruk JC yang telah di TCL kemudian disimpan di ruang inkubasi selama 8 minggu dan dilakukan pengamatan.

#### **3.6 Pengamatan**

Pengamatan terdiri dari pengamatan harian dan mingguan. Pengamatan harian dilakukan setiap 2 minggu yakni pada minggu ke 0, 2, 4, 6, 8, 10, dan minggu ke 12. Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu antara lain:

### 1. Persen Eksplan Berkalus

Pertumbuhan kalus diamati setiap 2 minggu setelah penanaman hingga muncul kalus dan dilakukan perhitungan terhadap eksplan yang tumbuh kalus. Perhitungan dilakukan dengan cara menjumlah semua eksplan yang tumbuh kalus kemudian dibagi dengan jumlah seluruh eksplan kemudian dikali 100%.

### 2. Hari Muncul Fase Globular (HMG)

Pengamatan hari muncul fase globular dilakukan setiap hari setelah penanaman hingga muncul fase globular yang berbentuk bulat.

### 3. Jumlah Tunas

Jumlah embrio diamati setiap minggu ke 2, 4, 6, dan 8 yang diamati meliputi berapa jumlah tunas yang tumbuh. Kriteria tunas yang diamati yaitu apabila eksplan sudah tumbuh calon tunas (tahap kotiledon).

### 4. Berat Planlet

Berat planlet diamati pada pengamatan minggu terakhir (minggu ke 8) berupa berat dari eksplan yang tumbuh. Planlet ditimbang beratnya dalam LAF dengan metode destruktif. Setelah ditimbang, planlet kemudian ditanam kembali dalam media.

### 5. Panjang tunas

Panjang tunas diamati pada pengamatan minggu terakhir (minggu ke 8), dengan mengukur panjang tunas yang tumbuh di atas cawan petri yang bawahnya sudah dilapisi dengan milimeter block.



## 6. Gambar Setiap Tahapan

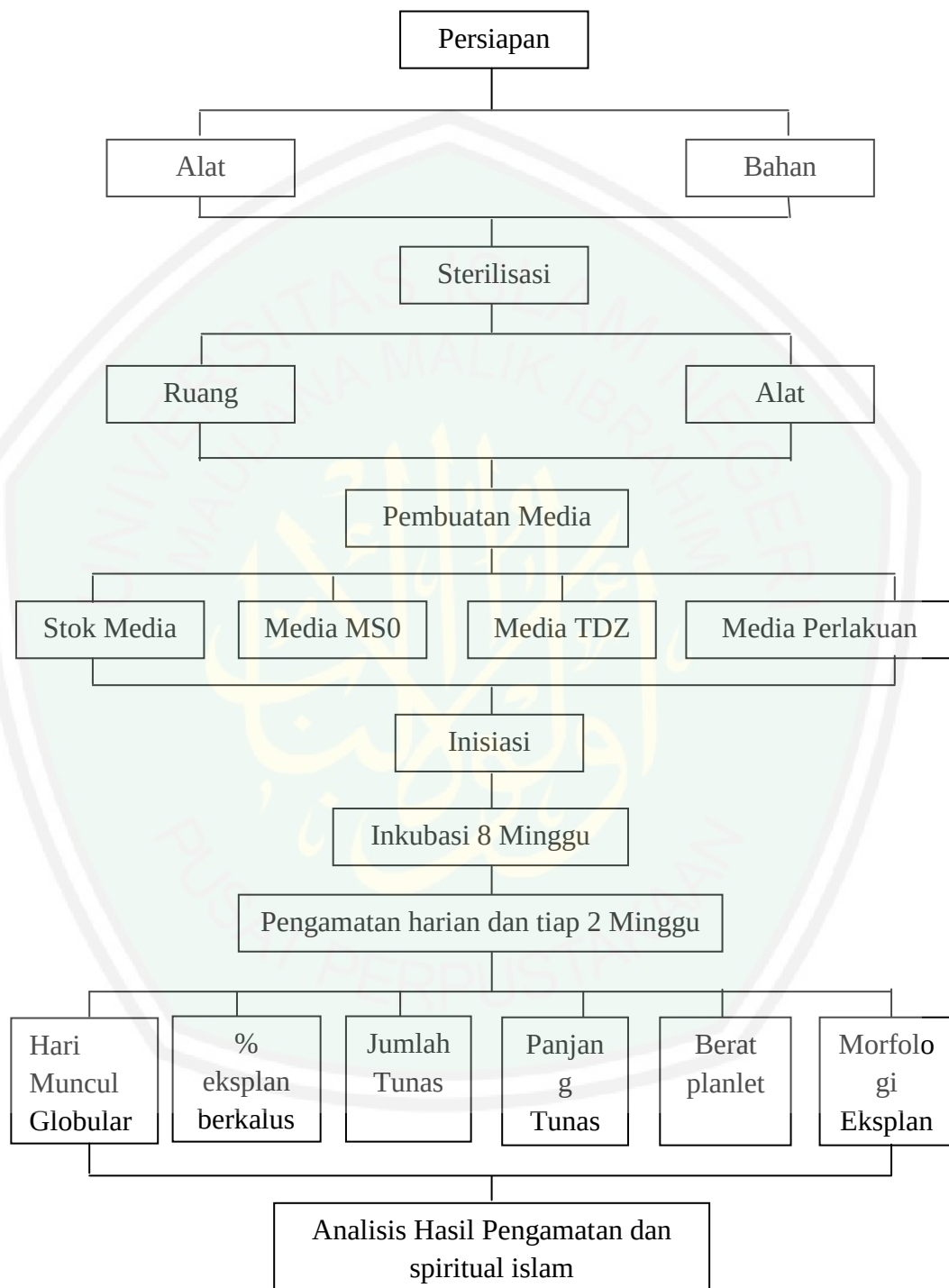
Dilakukan pengambilan gambar pada setiap terjadi perubahan tahapan embriogenesis.

### 3.7 Analisis Data

Data hasil pengamatan yang didapat dianalisis menggunakan *Analysis of Varian* (ANOVA). Apabila sidik ragam memberikan pengaruh yang nyata, selanjutnya dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf  $\alpha$  5%. Kemudian dilakukan analisis regresi untuk mengetahui beda antar perlakuan untuk mendapatkan konsentrasi metionin yang optimum.

Data hasil penelitian dianalisis dan diintegrasikan dengan ayat-ayat Al-qur'an dan Hadist sehingga akan diperoleh kesimpulan mengenai manfaat penelitian yang bersifat ilmiah dan nilai-nilai keislaman, dimana manusia diciptakan dengan tujuan sebagai khalifah di bumi ini yang ditugaskan untuk selalu menjaga, merawat dan memanfaatkan alam dengan semestinya.

### 3.8 Desain Penelitian



Gambar 3.1 Desain Penelitian

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pengaruh Pemberian Metionin terhadap Organogenesis Jeruk JC.

Hasil analisis varian (ANAVA) menunjukkan bahwa asam amino metionin memberikan pengaruh yang nyata terhadap proses organogenesis jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.). Ringkasan hasil analisis varian disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Ringkasan Hasil Analisis Varian (ANAVA) Pengaruh Metionin terhadap Organogenesis Jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).

| Variabel Respon                 | F-hitung | F-tabel 5% |
|---------------------------------|----------|------------|
| Persen Eksplan Berkalus         | 5,664 *  | 2,445      |
| Hari Muncul Fase Globular (HMG) | 56,185*  | 2,445      |
| Jumlah Tunas                    | 47,02 *  | 2,445      |
| Panjang tunas                   | 26,29 *  | 2,445      |
| Berat Planlet                   | 4,204 *  | 2,445      |

Keterangan : \* Pemberian Metionin berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Berdasarkan hasil ANAVA, menunjukkan bahwa F hitung variabel jumlah kalus, hari muncul fase globular, jumlah tunas, panjang tunas dan berat planlet lebih besar dari F tabel, yang artinya pemberian metionin berpengaruh nyata terhadap semua variabel yang diamati. Hal tersebut juga terkait dengan fungsi metionin sebagai start kodon atau kodon awal dalam proses sintesis protein. Menurut Jusuf (2001) yang menjelaskan bahwa metionin tersusun atas 3 basa (kodon) yaitu AUG yang berfungsi sebagai start kodon atau kodon awal dalam proses translasi. Karena peran metionin yang sangat penting terkait proses sintesis protein, maka apabila suatu tumbuhan kekurangan metionin maka proses

biosintesis protein terhambat selanjutnya akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan (organogenesis). Menurut Sen (2002) metionin mampu meningkatkan proliferasi sel tanaman.

Untuk mengetahui beda antar perlakuan sebagai pengaruh dosis pemberian metionin terhadap proses organogenesis dilakukan uji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Ringkasan hasil uji DMRT 5% disajikan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Metionin terhadap Organogenesis Jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).

| Perlakuan Metionin (mg/L) | % eksplan berkalus (%) | HMG (HST)      | Jumlah Tunas  | Panjang tunas (cm) | Berat Planlet (g) |
|---------------------------|------------------------|----------------|---------------|--------------------|-------------------|
| M0 (0)                    | 42,5 a                 | 41,60 e        | 0 a           | 0 a                | 0,014 a           |
| M1 (25)                   | 60,0 ab                | 35,55 d        | 0 a           | 0 a                | 0,028 abc         |
| M2 (50)                   | 82,0 bc                | 25,60 b        | 6,50 d        | 0,656 c            | 0,035 bc          |
| M3 (75)                   | <b>85,5 c</b>          | <b>20,20 a</b> | <b>9,35 e</b> | <b>0,908 d</b>     | <b>0,040 c</b>    |
| M4 (100)                  | 79,0 bc                | 29,75 c        | 4,30 c        | 0,396 bc           | 0,033 bc          |
| M5 (125)                  | 73,0 bc                | 34,70 d        | 2,0 b         | 0,234 b            | 0,024 ab          |
| M6 (150)                  | 42,5 a                 | 42,60 e        | 0 a           | 0 a                | 0,013 a           |

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan berdasarkan uji DMRT 5%.

Berdasarkan hasil uji DMRT 5%, dapat diketahui bahwa semua variabel pengamatan menunjukkan hasil terbaik pada perlakuan metionin M3 (75 mg/L). Variabel pengamatan persen eksplan berkalus menunjukkan hasil 85,5 % eksplan kotiledon jeruk JC membentuk kalus. Menurut Manuhara (2014) kalus terbentuk akibat adanya respon terhadap pelukaan permukaan eksplan yang diakibatkan oleh proses pemotongan atau pengirisan eksplan. Kalus itu sendiri menurut Ariati (2012) merupakan kumpulan sel yang belum terdiferensiasi. Kemudian untuk variabel pengamatan hari muncul fase globular, eksplan yang ditanam dalam

media dengan penambahan metionin 75 % tumbuh fase globular tercepat yaitu 20,2 HST. Menurut Sianipar *et al.*, (2007) dan Nugrahani *et al.*, (2011) globular adalah sekumpulan sel berbentuk bulat yang merupakan hasil pembelahan dari sel parenkim tunggal atau sekelompok kecil sel, hal tersebut merupakan proses awal organogenesis. Variabel jumlah tunas dengan perlakuan metionin 75 mg/L menghasilkan tunas per eksplan paling banyak, yaitu 9,35 tunas per eksplan. Begitu juga dengan variabel panjang tunas, panjang tunas terbaik terdapat dalam media perlakuan metionin 75 mg/L yaitu 0,908 cm. Variabel berat planlet juga mencapai berat tertinggi pada perlakuan 75 mg/L yaitu 0,04 gram.

Berdasarkan notasi hasil DMRT 5% pada variabel persen eksplan berkalus dan berat planlet hasil perlakuan 75 mg/L tidak berbeda nyata dengan perlakuan 50 mg/L yaitu 82 % eksplan berkalus dan 0,04 gram sehingga untuk jumlah kalus dan berat planlet dengan diberikan perlakuan metionin konsentrasi 50 mg/L sudah mendapatkan hasil yang baik. Namun berbeda dengan variabel hari muncul fase globular, jumlah tunas, dan panjang tunas, ketiga variabel tersebut terbaik pada pemberian metionin 75 mg/L dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, sehingga perlakuan metionin 75 mg/L menjadi konsentrasi yang paling efektif untuk proses organogenesis.

Berdasarkan hasil uji DMRT 5% pemberian metionin dengan konsentrasi 75 mg/L mampu memberikan nilai terbaik untuk variabel persen eksplan berkalus, hari muncul fase globular, jumlah tunas, panjang tunas dan berat planlet, hal tersebut dikarenakan kemampuan metionin yang dalam konsentrasi tertentu mampu menjadi prekursor sitokinin endogen. Hal tersebut sesuai dengan



pernyataan Druart (1988) yang menyatakan bahwa penambahan 50 sampai 100 mg/L L-metionin ke medium mampu meningkatkan produksi sitokinin endogen pada tanaman *Prunus glandulosa* yang dikulturkan secara *in vitro*. Pemberian metionin dengan konsentrasi 50 mg/L sampai 100 mg/L memberikan hasil jumlah tunas terbanyak. Sedangkan eksplan yang ditanam dalam media dengan penambahan metionin 150 mg/L tidak terjadi pertumbuhan tunas.

Konsentrasi metionin yang tinggi berpengaruh terhadap viskositas media tanam juga semakin tinggi. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Prisma (2015) yang menyatakan bahwa konsentrasi suatu larutan yang meningkat maka viskositas juga akan mengalami peningkatan. Hal tersebut dikarenakan viskositas berbanding lurus dengan konsentrasi suatu larutan. Menurut Suthar *et al.*, (2011) menyatakan bahwa kekentalan atau viskositas suatu media dapat menghambat proses organogenesis dan pertumbuhan tunas serta mengurangi ketersediaan air dalam media kultur jaringan tumbuhan.

Konsentrasi metionin yang terlalu tinggi mengakibatkan sitokinin endogen yang diproduksi juga semakin tinggi. Menurut Wattimena (2002) menyatakan bahwa fitohormon atau hormon endogen yang berada dalam tanaman mampu mendorong pertumbuhan suatu tanaman hanya dengan jumlah yang rendah. Kemudian Hartman (2002), Tefera (2006) dan Wattimena (1992) menyatakan bahwa fitohormon merupakan substansi alami yang mampu memacu pertumbuhan dan perkembangan apabila disintesis dalam jumlah yang sedikit, jika kandungan fitohormon dalam tanaman terlalu tinggi maka tanaman cenderung tidak akan menerima respon pertumbuhan sehingga proses pertumbuhan akan terganggu.

Metionin diketahui mampu menjadi prekursor sitokinin saat dilakukan isolasi *Cytokinin Binding Protein* (CBP) menghasilkan dua subunit dari 57 dan 36 kD kemudian CBP57 dikloning dan menemukan cDNA yang homolog dengan *S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase* (SAH hydrolase). SAH merupakan transfer metil yang dibentuk oleh *S-adenosyl-L-Methionine* (SAM). Selain itu adanya SAH menunjukkan peningkatan aktivitas sitokinin 3 kali lipat pada eksudat akar, serta terlibat dalam pembelahan sel dan diferensiasi sel (Faure, 1999). Penelitian Mitsui *et al* (1993) menunjukkan bahwa SAHH ditemukan pada subunit ke 103-kDa pada *Cytokinin Binding Protein* yang diisolasi dari daun tembakau.

Selain faktor dari metionin yang mampu menjadi prekursor sitokinin, metionin sendiri merupakan salah satu asam amino yang mengandung sulfur. Ravanel *et al.*, (2004) menyatakan bahwa metionin merupakan salah satu jenis asam amino yang mengandung sulfur. Sulfur merupakan unsur hara makro yang harus ada di dalam media kultur jaringan tumbuhan, fungsi sulfur yaitu untuk menunjang pertumbuhan dan morfogenesis yang optimal, untuk mencapai pertumbuhan yang optimal, sulfur eksogen yang perlu ditambahkan dalam media berkisar antara 1 sampai 3 mM. Kekurangan sulfur dapat mengganggu proses sintesis protein, akibatnya pertumbuhan tanaman juga akan terganggu (Saad, 2012).

Beberapa penelitian kultur jaringan tumbuhan dengan penambahan asam amino yaitu antara lain penelitian dari Sen *et al.*, (2002) menggunakan metionin dengan konsentrasi 4 mM mampu menghasilkan tunas *Vigna radiata* sebanyak 1,19 %. Hamasaki *et al.*, (2005) yang menggunakan glutamin sebagai penunjang

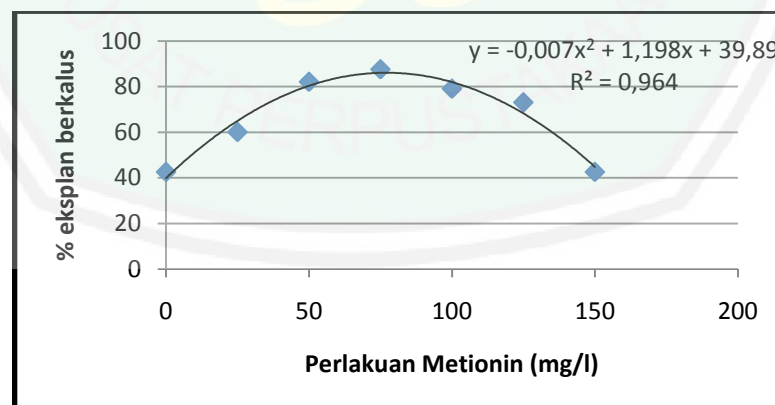
pertumbuhan eksplan. Hasil terbaik pada penelitian tersebut yaitu pemberian glutamin dengan konsentrasi 8 mM dan penambahan NAA 1 mg/L serta BA 2 mg/L dengan jumlah tunas mencapai 70% eksplan yang digunakan adalah daun dari *Ananas comosus*. Kemudian penelitian Sarker *et al.*, (2007) induksi embrio somatik dengan menggunakan kalus gandum (*Triticum aestivum* L.) sebagai eksplan dan L-Asparagin sebagai asam amino yang ditambahkan dalam media MS, konsentrasi yang paling optimal 150 mg/L dengan rata-rata embrio somatik sebesar 62,7 %.

Auksin endogen yang terdapat pada eksplan juga berperan dalam proses pembesaran eksplan yang akan mempengaruhi berat planlet. Menurut Parera (1997) auksin berperan dalam penyerapan air sehingga akan mendorong pemanjangan sel dan pembesaran sel, akibatnya bobot atau berat basah tanaman akan meningkat. Menurut Abidin (2005) dalam proses pembelahan sel, maka ukuran eksplan bentuk dan volume eksplan akan bertambah sehingga mempengaruhi berat planlet. Perbedaan berat planlet pada masing-masing perlakuan dikarenakan faktor pertumbuhan tunas, banyaknya tunas yang tumbuh juga akan mempengaruhi berat planlet.

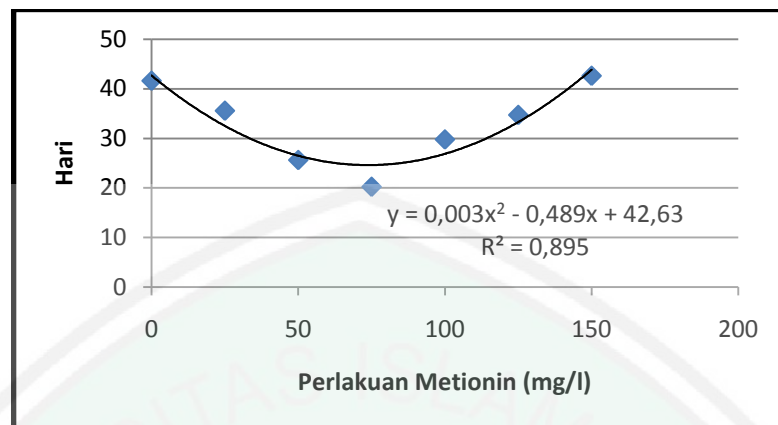
Kinerja auksin pada perkembangan sel tanaman dapat dipahami melalui mekanisme polar transport yang berkaitan dengan *auxin influx* dan *auxin efflux*. Auksin masuk ke dalam sel dengan cara difusi pasif melalui membran plasma menuju sitosol. Ketika berada di dalam sitosol yang memiliki pH 7,2, auksin mendominasi dalam bentuk anion kemudian keluar melalui *auxin anion efflux carrier* (Taiz dan Zeiger, 2010). Pompa proton pada membran plasma digerakkan

oleh ATP dan mentransfer  $H^+$  pada dinding sel membentuk  $H^+$ -ATPase menyebabkan pH menjadi asam (pH 5). Aktivitas ATP dalam menggerakkan pompa proton menyebabkan terjadinya perbedaan pH bagian dalam dan luar sel. Akibat adanya ion  $H^+$  menyebabkan aktifnya enzim tertentu sehingga memutuskan beberapa ikatan silang hidrogen rantai molekul selulosa penyusun dinding sel. Air menjadi mudah masuk melalui membran sel dengan cara osmosis arena dinding sel menjadi lebih plastis dan sel bertambah besar (Campbell dan Reece, 2008). Davies (2004) juga menjelaskan bahwa auksin mengaktifkan proton ATPase pada membran plasma dan mengakibatkan proton terpompa keluar, terjadinya pelenturan dinding sel dan aktifnya gen-gen yang berkaitan dengan pertumbuhan sel.

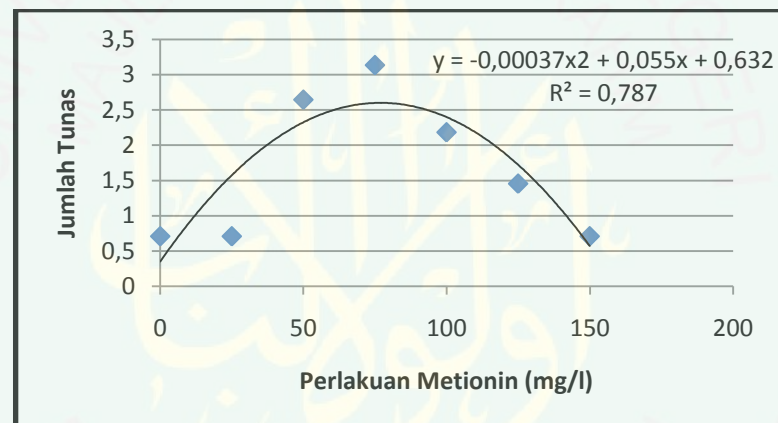
Untuk mengetahui konsentrasi optimum dari metionin yang dapat meningkatkan induksi kalus dilakukan analisis regresi. Hasil analisis regresi tersaji pada gambar 4.1; 4.2; 4.3; 4.4; dan 4.5.



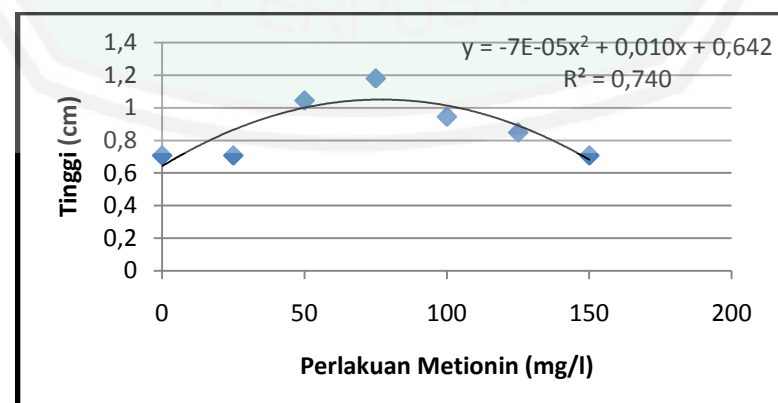
Gambar 4.1 Kurva Regresi Pengaruh Metionin terhadap Persen Eksplan Berkalus Jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.)



Gambar 4.2 Kurva Regresi Pengaruh Metionin terhadap Hari Muncul Fase Globular Jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.)

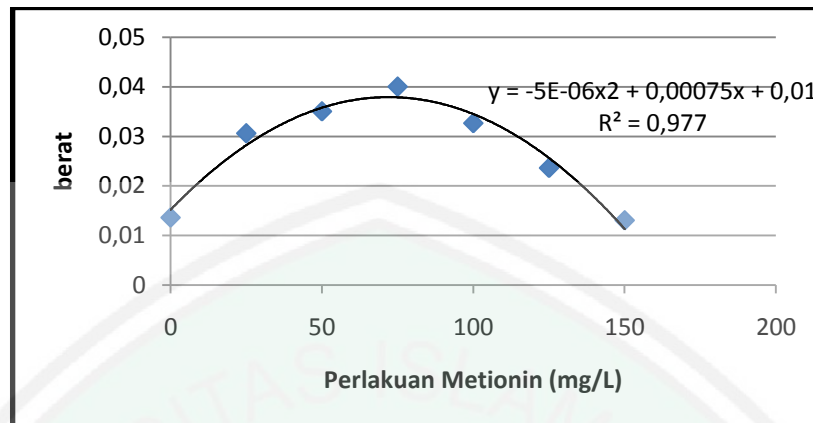


Gambar 4.3 Kurva Regresi Pengaruh Metionin terhadap Jumlah Tunas Jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.). regresi berdasarkan hasil data transformasi akar kuadrat.



Gambar 4.4 Kurva Regresi Pengaruh Metionin terhadap Panjang tunas Jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.). regresi berdasarkan hasil data transformasi akar kuadarat.





Gambar 4.5 Kurva Regresi Pengaruh Metionin terhadap Berat planlet Jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.)

Berdasarkan grafik regresi persen eksplan berkalus didapatkan garis kuadratik dengan persamaan  $y = -0,007x^2 + 1,198x + 39,89$  dengan koefisien determinasi  $R^2 = 0,964$  yang artinya hubungan antara pemberian metionin dengan jumlah kalus yang tumbuh yakni sebesar 96,4%. Pada analisis deferensial dengan persamaan  $y = -0,007x^2 + 1,198x + 39,89$  bahwa pemberian metionin terhadap jumlah kalus mencapai titik optimum pada koordinat (85,57 ; 91,14) yang artinya konsentrasi yang optimum untuk mendapatkan jumlah kalus yang tertinggi adalah dengan menambahkan konsentrasi metionin sebesar 85,57 mg/L dengan rata-rata eksplan yang berkalus adalah 91,14 %.

Pengamatan hari muncul fase globular dilakukan dengan cara mengamati pada hari ke berapa tumbuhnya fase globular setelah eksplan ditanam pada media perlakuan. Berdasarkan grafik regresi didapatkan persamaan  $y = 0,003x^2 - 0,489x + 42,63$  dan didapatkan nilai koefisien determinasi  $R^2 = 0,895$ , hubungan antara pemberian metionin dengan hari muncul fase globular yang tumbuh yakni sebesar 89,5%. Pada analisis deferensial dengan persamaan  $y = 0,003x^2 - 0,489x + 42,63$  bahwa pemberian metionin terhadap hari muncul fase globular mencapai titik

optimum pada koordinat (81,5 ; 22,7) yang artinya konsentrasi yang optimum untuk mendapatkan hari tercepat pertumbuhan fase globular adalah dengan menambahkan konsentrasi metionin sebesar 81,5 mg/L dengan rata-rata hari tumbuh tercepat adalah 22,7 HST.

Berdasarkan grafik regresi jumlah tunas di atas didapatkan rumus regresi kuadratik yaitu  $y = -0,00037x^2 + 0,055x + 0,632$  dengan koefisien determinasi  $R^2=0,787$  yang artinya hubungan antara metionin dengan jumlah tunas yakni sebesar 78,7 %. Pada analisis deferensial dengan persamaan  $y = -0,00037x^2 + 0,055x + 0,632$  bahwa pemberian metionin terhadap jumlah tunas mencapai titik optimum pada koordinat (74,3 ; 2,7) yang artinya konsentrasi yang optimum untuk mendapatkan jumlah tunas yang tertinggi adalah 74,3 mg/L dengan rata-rata jumlah tunas adalah 2,7 tunas per eksplan.

Hasil analisis regresi untuk panjang tunas didapatkan garis kuadratik dengan persamaan  $y = -0,00007x^2 + 0,010x + 0,642$  dengan koefisien determinasi  $R^2 = 0,740$  yang artinya hubungan antara pemberian metionin dengan berat planlet yakni sebesar 74 %. Pada analisis deferensial dengan  $y = -0,00007x^2 + 0,010x + 0,642$  bahwa pemberian metionin terhadap panjang tunas mencapai titik optimum pada koordinat (71,4 ; 1) yang artinya konsentrasi yang optimum untuk mendapatkan panjang tunas yang tertinggi adalah 71,4 mg/L dengan rata-rata tinggi eksplan adalah 1 cm.

Hasil analisis regresi untuk variabel berat planlet didapatkan garis kuadratik dengan persamaan  $y = -0,000005x^2 + 0,00075x + 0,01$  dengan koefisien determinasi  $R^2 = 0,977$  yang artinya hubungan antara pemberian metionin dengan

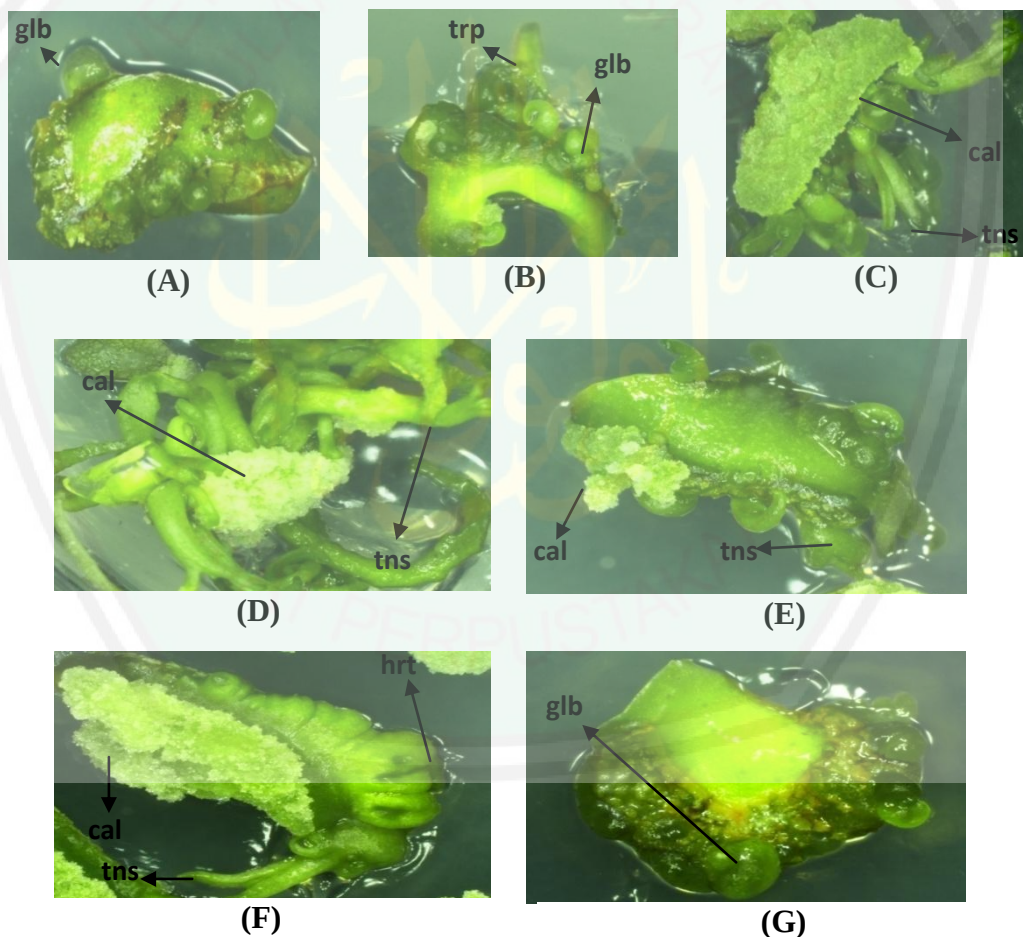
berat planlet yakni sebesar 97,7%. Pada analisis deferensial dengan persamaan  $y = -0,000005x^2 + 0,00075x + 0,01$  bahwa pemberian metionin terhadap berat planlet mencapai titik optimum pada koordinat (75 ; 0,03813) yang artinya konsentrasi yang optimum untuk mendapatkan berat planlet yang tertinggi adalah 75 mg/L dengan rata-rata berat planlet adalah 0,03813.

Berdasarkan kurva regresi yang terbentuk pada semua variabel pengamatan, kurva terus mengalami peningkatan sampai titik konsentrasi metionin antara 50 mg/L dan 100 mg/L. Kemudian kurva mengalami penurunan pada konsentrasi 100 mg/L sampai 150 mg/L. Adanya peningkatan kurva menunjukkan adanya pertumbuhan dari eksplan dan respon yang baik terhadap konsentrasi metionin yang diberikan, sebaliknya kurva yang mengalami penurunan menandakan adanya penghambatan tumbuh eksplan yang diakibatkan oleh tingginya konsentrasi metionin yang ditambahkan. Semakin tinggi konsentrasi metionin yang ditambahkan dalam media, maka kurva juga akan semakin menurun.

#### 4.2 Pengaruh Metionin terhadap Morfologi Planlet

Pertumbuhan eksplan kotiledon yang ditanam dalam media dengan berbagai konsentrasi metionin menunjukkan respon pertumbuhan yang berbeda-beda diamati sampai minggu ke 8. Hal tersebut dapat dilihat dari morfologi planlet kotiledon jeruk JC.

Pengamatan morfologi planlet jeruk JC yang diamati selama 8 minggu ditunjukkan dengan gambar 4.6.



Gambar 4.6 Hasil Pengamatan Morfologi Planlet Kotiledon Minggu ke 8. dengan perbesaran 250 X. (A) Perlakuan metionin 0 mg/L (M0) (B) Perlakuan metionin 25 mg/L (M1) (C) Perlakuan metionin 50 mg/L (M2) (D) Perlakuan metionin 75 mg/L (M3) (E) Perlakuan metionin 100 mg/L (M4) (F) Perlakuan metionin 125 mg/L (M5) (G) Perlakuan metionin 150 mg/L (M6). glb: fase globular, trp: fase torpedo, cal: kalus, tns: tunas, hrt: fase heart.

Berdasarkan pengamatan morfologi dapat diketahui bahwa eksplan yang ditanam dalam media dengan penambahan metionin 0 mg/L setelah ditanam dalam media selama 8 minggu hanya fase globular yang tumbuh dan tidak sampai berlanjut pada fase selanjutnya yaitu heart, torpedo dan kotiledon. Kemudian eksplan yang ditanam dalam media dengan penambahan metionin 25 mg/L mampu tumbuh sampai fase torpedo namun tidak sampai tumbuh menjadi tunas. Eksplan yang ditanam dalam media dengan penambahan metionin 50 mg/L sampai dengan penambahan metionin 125 mg/L mampu tumbuh tunas. Dari keempat perlakuan metionin yang mampu menginduksi pertumbuhan tunas dapat dilihat bahwa perlakuan 50 mg/L dan 75 mg/L lebih banyak menghasilkan tunas bila dibandingkan dengan perlakuan 100 mg/L dan 125 mg/L.

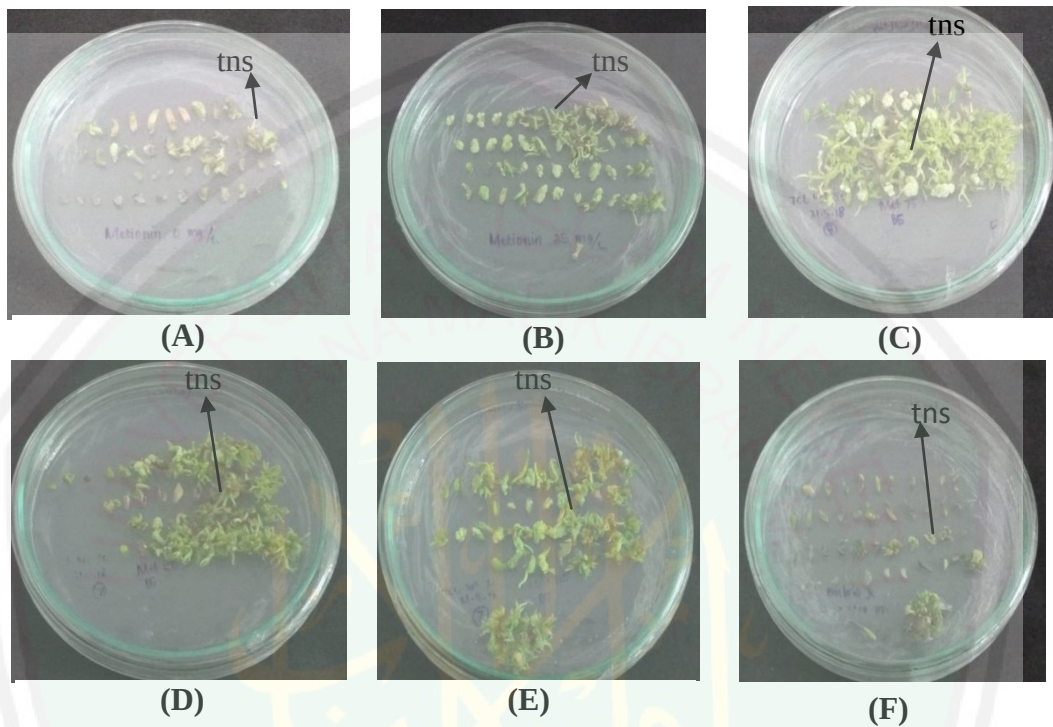
Jumlah tunas yang lebih banyak dapat dilihat pada perlakuan metionin 75 mg/L bila dibandingkan dengan perlakuan 50 mg/L. Menurut Druart (1988) menyatakan bahwa pemberian metionin dalam media kultur jaringan dengan konsentrasi 50 mg/L sampai 100 mg/L mampu menjadi prekursor terbentuknya sitokinin endogen pada eksplan *Prunus glandulosa*. Dengan fungsinya sebagai prekursor sitokinin dan juga metionin yang merupakan salah satu asam amino yang mengandung sulfur menjadi faktor terbentuknya tunas pada eksplan kotiledon jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.). Menurut Zulkarnain (2009) sitokinin dalam tumbuhan berfungsi untuk pembentukan tunas. Sedangkan fungsi sulfur menurut Saad (2012) sulfur merupakan unsur hara makro yang harus ada di dalam media kultur jaringan tumbuhan, fungsi sulfur yaitu untuk menunjang pertumbuhan dan morfogenesis yang optimal.



Selain fungsi metionin sebagai prekursor sitokinin dan merupakan asam amino yang mengandung sulfur, metionin juga merupakan asam amino yang sangat penting terkait dengan sintesis protein. Hal tersebut dikarenakan metionin memiliki tiga basa kodon yaitu AUG. Kodon AUG tersebut merupakan kodon awal atau start kodon dalam proses sintesis protein. Metionin tersusun atas 3 basa (kodon) yaitu AUG yang berfungsi sebagai start kodon atau kodon awal dalam proses translasi. Karena peran metionin yang sangat penting terkait proses sintesis protein, maka apabila suatu tumbuhan kekurangan metionin maka proses biosintesis protein terhambat yang selanjutnya akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan (organogenesis) (Jusuf, 2001). Fungsi metionin yang sangat penting terkait proses sintesis protein membuat metionin sangat dibutuhkan dalam tanaman, karena proses sintesis protein tidak akan terjadi apabila tidak terdapat metionin hal tersebut terkait fungsi metionin sebagai start kodon dalam proses sintesis protein.

Berdasarkan hasil pengamatan, terdapat beberapa konsentrasi yang tidak tumbuh tunas yaitu pengamatan metionin 0 mg/L, 25 mg/L dan 150 mg/L. Hal tersebut dapat disebabkan karena waktu pengamatan yang kurang. Penelitian Sucandra *et al.*, (2015) dengan menggunakan glisin sebagai perlakuan dan tanpa penambahan ZPT membutuhkan waktu pengamatan selama 4 bulan untuk mendapatkan hasil yang diharapkan. Perlakuan metionin 0 mg/L, 25 mg/L dan 150 mg/L kemungkinan membutuhkan waktu yang lebih lama untuk mampu menghasilkan tunas. Hal tersebut terbukti dari hasil pengamatan pada bulan ke 5 setelah tanam.

Hasil pengamatan morfologi planlet pada minggu ke 20 atau pengamatan pada bulan ke 5 dapat dilihat pada gambar 4.7.



Gambar 4.7 Hasil Pengamatan Morfologi Planlet Kotiledon pada Minggu ke 20 (5 bulan). (A) Perlakuan metionin 0 mg/L (M0) (B) Perlakuan metionin 25 mg/L (M1) (C) Perlakuan metionin 75 mg/L (M3) (D) Perlakuan metionin 100 mg/L (M4) (E) Perlakuan metionin 125 mg/L (M5) (F) Perlakuan metionin 150 mg/L (M6).  
tns : tunas

Berdasarkan hasil pengamatan pada bulan ke 5 setelah tanam jumlah tunas yang tumbuh lebih banyak dan mengalami repetitif organogenesis. Hal tersebut dapat dilihat dari rata-rata jumlah tunas tiap sampel di setiap perlakuan. Perlakuan kontrol atau tanpa pemberian metionin didapatkan hasil rata-rata tunas per sampel sebesar 4,5. Kemudian perlakuan metionin 25 mg/L didapatkan hasil jumlah tunas per sampel sebesar 17,25, jumlah tunas dengan pemberian metionin dengan konsentrasi 75 mg/L didapatkan hasil sebesar 47,5. Kemudian perlakuan metionin

dengan konsentrasi 100 mg/L didapatkan hasil jumlah tunas sebesar 35,25 tunas tiap sampel. Perlakuan metionin dengan konsentrasi 125 mg/L didapatkan hasil jumlah tunas sebesar 25,25 per sampel. Dan perlakuan metionin dengan konsentrasi 150 mg/L jumlah tunas yang didapat sebesar 1,75 mg/L.

Berdasarkan jumlah tunas yang tumbuh dengan penanaman selama 5 bulan, metionin mampu menginduksi tunas organogenesis repetitif. Dapat dilihat pula bahwa semua perlakuan mampu menghasilkan tunas. Untuk perlakuan 25 mg/L mampu menghasilkan tunas repetitif dengan jumlah 17,25 tunas per sampel. Perlakuan metionin 150 mg/L juga masih mampu menghasilkan tunas meskipun tidak tumbuh tunas repetitif.

#### **4.3 Kajian Islam Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam**

Penelitian ini dilatar belakangi oleh permasalahan yang terjadi yaitu permintaan stok batang bawah yang sangat tinggi. Apabila batang bawah ditanam secara generatif akan membutuhkan waktu yang lama, tidak hanya itu, lahan untuk menanamnya pun juga terbatas. Oleh karena itu manusia sebagai khalifah harus memiliki suatu tindakan untuk mengatasinya sebagai wujud syukur kepada Allah SWT dan sebagai wadah untuk mengembangkan ilmu pengetahuannya. Berdasarkan hal tersebut maka diharapkan melalui penelitian ini dapat dijadikan upaya untuk meningkatkan produksi batang bawah jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.) dengan memanfaatkan teknik kultur jaringan.

Proses pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman merupakan suatu hal yang sangat kompleks. Untuk itu membutuhkan suatu media tanam yang baik.

Tanah merupakan media tanam yang baik bagi tanaman dengan unsur-unsur yang terkandung dalam tanah yang mampu mendukung pertumbuhan suatu tanaman. Sebagai media tanam, tanah harus menyediakan faktor-faktor utama pendukung pertumbuhan tanaman seperti unsur hara makro dan unsur hara mikro, air dan udara. Semua faktor-faktor tersebut harus seimbang untuk menghasilkan tanaman yang baik. Sebagaimana firman Allah dalam Al-A'raf ayat 58 sebagai berikut:

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ ۖ وَالَّذِي خَبُثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا نَكْدًا ۚ كَذَٰلِكَ نُصَرِّفُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ﴿٥٨﴾

Artinya: "Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan izin Allah; dan tanah yang tidak subur, tanamannya hanya tumbuh merana. Demikianlah kami mengulangi tanda-tanda kebesaran (Kami) bagi orang-orang yang bersyukur" (Al-A'raf: 58).

Menurut Tafsir Ibnu Katsir (2007) "tanah yang subur yakni tanah yang baik yang mengeluarkan tumbuhan dengan cepat dan subur. Sedangkan tanah yang tidak subur menurut Mujahid ialah tanah yang belum digarap dan belum siap untuk ditanami, serta tanah lainnya yang tidak dapat ditanami". Berdasarkan makna ayat di atas dapat diketahui bahwa tanah yang subur yaitu tanah yang memiliki kandungan komposisi unsur yang lengkap dan seimbang sehingga pertumbuhan tanaman juga baik, sedangkan tanah yang tidak subur merupakan tanah yang tidak memiliki kandungan unsur hara yang seimbang dalam tanah dan menyebabkan tanaman tidak tumbuh dengan baik, bahkan akan mengalami kematian.

Menurut Al Jazairi (2007) "Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah..." yaitu keadaan dimana Allah telah

menurunkan air padanya. Sedangkan “*Dan tanah yang tidak subur...*” yaitu tanah dengan kualitas yang buruk dan berkerikil, ketika hujan turun tanaman-tanamannya hanya akan tumbuh tidak terawat, merana, tidak subur, susah dan tidak bagus. Berdasarkan kedua tafsir tersebut dapat disimpulkan bahwa tanah yang subur maka tanaman yang ditanam di atasnya akan tumbuh dengan subur.

Media pertumbuhan untuk tanaman saat ini bukan hanya tanah, namun sudah banyak penemuan macam-macam media tanam pengganti tanah yang komposisi dasarnya sudah disamakan dengan komposisi yang terkandung dalam tanah yang baik sehingga tanaman yang ditanam dalam media tersebut akan tumbuh dengan baik pula. Salah satu media pengganti tanah yaitu media Murasige & Skoog (MS).

Kultur jaringan tumbuhan merupakan teknik memperbanyak tanaman dengan memadukan berbagai zat yang dapat menunjang pertumbuhan tanaman seperti ZPT dan asam amino sehingga bisa tumbuh dengan optimal. Banyak peneliti yang mencari kadar yang paling optimal untuk penambahan ZPT maupun asam amino karena kebutuhan masing-masing tanaman untuk mampu tumbuh secara optimal berbeda-beda. Sebagaimana dijelaskan oleh Armini (1992) yang menyatakan bahwa konsentrasi yang dibutuhkan dari setiap zat pengatur tumbuh tergantung dari jenis genotip, eksplan, kondisi kultur serta jenis zat pengatur tumbuh. Hal tersebut telah dijelaskan dalam Al-Quran surah Al-Qamar ayat 49 sebagai berikut:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya: “*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*”. (QS Al-Qamar: 49).



Menurut tafsir Ibnu Katsir (1994) bahwa Allah SWT telah menetapkan suatu ukuran dan memberikan petunjuk kepada semua makhluk mengenai ketetapan tersebut. Allah menciptakan segala sesuatu dengan ukuran yang tepat dan sesuai dengan ketetapan takdirnya. Ukuran yang tepat atas segala sesuatu yang diciptakan Allah berkaitan dengan kadar ZPT ataupun asam amino yang ditambahkan dalam suatu media untuk pertumbuhan tanaman jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.). Pada penelitian ini pengatur tumbuh yang ditambahkan adalah asam amino metionin, dalam hal ini konsentrasi metionin yang paling optimal untuk pertumbuhan tanaman jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.) adalah 75 mg/L dimana pada konsentrasi tersebut pertumbuhan kalus, dan tunas dapat tumbuh dengan optimal jika dibandingkan dengan konsentrasi yang lain. Pemberian metionin yang lebih rendah atau lebih tinggi dari konsentrasi 75 mg/L pertumbuhan eksplan kotiledon jeruk mengalami penurunan. Hal tersebut menunjukkan bahwa butuh konsentrasi yang sesuai untuk menumbuhkan tanaman jeruk dengan optimal.

Pertumbuhan merupakan peristiwa pembelahan dan pembesaran sel. Proses perubahan secara kuantitatif berupa bertambahnya jumlah sel, ukuran sel, lebar serta berat dari organisme yang sedang mengalami pertumbuhan disebut dengan pertumbuhan. Allah SWT berfirman dalam QS. Al-Insyiqaq ayat 19 mengenai parameter pertumbuhan yang bervariasi dan bersifat kuantitatif, ayat tersebut berbunyi:

لَتَرْكَبُنَّ طَبَقًا عَنْ طَبَقٍ ﴿١٩﴾

Artinya : “Sesungguhnya kamu melalui tingkat demi tingkat (dalam kehidupan).”

Menurut tafsir Ibnu Katsir (2007) menjelaskan bahwa Iman al-Bikhari meriwayatkan dari Mujahid, dia berkata bahwa Ibnu Abbas mengatakan “*Sesungguhnya kamu melalui tingkat demi tingkat (dalam kehidupan)*”, yaitu perubahan dari satu keadaan ke keadaan yang lain. Dalam konteks tumbuhan, kalimat tersebut dapat diartikan sebagai pertumbuhan. Organogenesis terjadi karena adanya pembelahan sel serta pemanjangan sel pada eksplan yang bersifat meristematik yang ditunjang dengan adanya ZPT dalam media yang sesuai untuk melakukan proses organogenesis.

Proses pertumbuhan eksplan dalam media kultur jaringan terbagi menjadi tiga tahap yaitu induksi, pembelahan, dan diferensiasi. Tahap induksi sel siap untuk membelah, metabolisme menjadi aktif dan ukuran sel tetap konstan. Pada tahap pembelahan, sel aktif membelah dan bersifat meristematik. Sedangkan pada tahap diferensiasi sel mulai membentuk fase-fase yang akan tumbuh menjadi organ yang baru.

Hasil penelitian ini merupakan bukti kekuasaan Allah SWT, dimana manusia dapat melihat bagaimana Allah menunjukkan tahapan-tahapan kehidupan sebuah tanaman. Sebagaimana telah terlihat dalam pertumbuhan eksplan kotiledon hingga membentuk tunas-tunas baru. Maha Suci Allah atas segala kekuasaan dan kebesaran-Nya, semoga dapat menjadi pelajaran bagi manusia sebagai khalifah untuk semakin mendekatkan diri kepada Allah SWT.

Manusia diciptakan oleh Allah SWT sebagai khalifah di muka bumi. Khalifah dalam hal ini yaitu manusia diciptakan untuk menjadi penguasa yang mengatur apa-apa yang ada di bumi, seperti tumbuhan, hewan, air, hutan, sungai,

gunung, laut dan lain sebagainya yang mana manusia mampu untuk memanfaatkan segala yang ada di bumi yang digunakan untuk kemaslahatannya.

Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan sempurna. Sehingga apabila dipelajari lebih lanjut dapat diketahui bahwa teknik kultur jaringan terdapat kelebihan dan kekurangan. Karena teknik kultur jaringan dengan memanfaatkan proses organogenesis kotiledon jeruk JC merupakan hasil pemikiran manusia sehingga dapat dipastikan banyak terdapat kekurangan. Namun demikian, hasil pemikiran ini juga memiliki manfaat tersendiri yakni mampu menunjang produksi bibit jeruk batang bawah secara cepat dengan hasil produksi yang besar. Hal tersebut merupakan bentuk anugerah akal yang diberikan oleh Allah SWT kepada manusia untuk memikirkan ciptaan-Nya seperti yang telah dijelaskan dalam QS. Al-Imron ayat 191 yang berbunyi:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ  
وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya : “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”.

Menurut Tafsir Ibnu Katsir (2007) “orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring” maksudnya mereka tidak putus-putus berdzikir dalam semua keadaan, baik dengan hati maupun dengan lisan mereka. Mereka tidak henti-hentinya memikirkan kekuasaan Allah atas semua makhluk ciptaan-Nya.

Kemudian menurut Tafsir Ibnu Katsir (2007) maksud dari “*dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi*” maksudnya mereka memahami apa yang ada di keduanya dari kandungan hikmah yang menunjukkan keagungan Allah, kekuasaan-Nya, keluasan ilmu-Nya, hikmah-Nya, pilihan-Nya, juga rahmat-Nya. Sungguh Allah mencela orang yang tidak mengambil pelajaran tentang makhluk-makhluk-Nya yang menunjukkan kepada dzat-Nya, sifat-Nya, syariat-Nya, kekuasaan-Nya dan tanda-tanda (kekuasaan)-Nya.

Menurut Tafsir Ibnu Katsir (2007) maksud dari kutipan ayat “*Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia*” artinya, bahwa segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah tiadalah yang sia-sia, tetapi dengan penuh kebenaran, agar Engkau memberikan balasan kepada orang-orang yang beramal buruk dan beramal baik terhadap apa-apa yang mereka kerjakan. Kemudian mereka mensucikan Allah dari perbuatan sia-sia dan penciptaan yang bathil seraya berkata “*Maha Suci Engkau*” yakni dari menciptakan sesuatu yang sia-sia. “*maka peliharalah kami dari siksa neraka*” maksudnya adalah Wahai Dzat yang jauh dari kekurangan, peliharalah kami dari adzab neraka dengan daya dan kekuatan-Mu dan berikanlah taufik kepada kami dalam menjalankan amal shalih yang dapat mengantarkan kami ke Surga serta menyelamatkan kami dari adzab-Mu yang sangat pedih (Al-Jazairi, 2007).

Ayat di atas menjelaskan bahwa orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi artinya mereka selalu mengingat Allah SWT dalam keadaan apapun dan dimanapun. Mereka selalu menggunakan akal dan

pikiran yang telah dianugerahkan kepada mereka untuk mengingat dan mempelajari segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT di bumi maupun di langit. Dengan demikian mereka akan mampu membaca situasi yang ada di lingkungan mereka dengan mampu menemukan solusi atas masalah yang terjadi di lingkungan.

Jawa Timur merupakan produsen jeruk utama ketiga di Indonesia dengan salah satu sentra utamanya adalah jeruk manis di Kecamatan Dau, Kabupaten Malang yang merupakan sentra utama jeruk manis terluas di Indonesia. Masyarakat sekitar juga banyak yang memanfaatkan hasil dari bertanam jeruk di pekarangan rumah. Mereka memaparkan bahwa dengan memanfaatkan hasil bertanam jeruk, dapat mendongkrak perekonomian warga. Kebanyakan warga menjual hasil panennya kepada tengkulak, namun tidak jarang juga yang berjualan dengan mengolahnya menjadi jus segar. Buah jeruk yang terus menerus dinikmati oleh semua kalangan, diharuskan memiliki kualitas buah yang baik. Untuk mendapatkan buah dengan kualitas yang baik maka harus tersedia bibit jeruk yang baik pula. Kualitas jeruk dipengaruhi oleh kualitas batang bawah, jika kualitas batang bawah baik, maka dapat dipastikan kualitas buah jeruk yang dihasilkan juga baik.

Produksi batang bawah jeruk dengan metode kultur jaringan akan menghasilkan bibit batang bawah jeruk dengan jumlah yang tinggi. Selain itu, perbanyak dengan menggunakan metode kultur jaringan juga mempersingkat waktu penyediaan bibit. Sehingga kebutuhan batang bawah jeruk akan terpenuhi dengan baik.



Allah SWT menciptakan manusia di muka bumi ini untuk menjadi khalifah yang mengemban tugas menjaga kelestarian lingkungan sehingga kehidupan di bumi akan stabil. Menjaga kelestarian dapat dilakukan dengan merawat plasma nutfah yang ada. Mengatasi masalah terkait dengan kelestarian lingkungan, hal ini bisa diatasi salah satunya dengan memanfaatkan teknik kultur jaringan tumbuhan dengan baik. Dengan hasil penelitian ini semoga dapat menambah keimanan dan ketaqwaan kepada Allah SWT.



## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis data pengamatan maka penelitian pengaruh pemberian metionin terhadap organogenesis repetitif jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck) dengan teknik TCL (Thin Cells Layer) secara *in vitro* dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian metionin berpengaruh terhadap organogenesis jeruk JC meliputi hari muncul fase globular, jumlah tunas, panjang tunas dan berat planlet
2. Konsentrasi metionin yang paling optimal untuk persen eksplan berkalus adalah 85,75 mg/L dengan rata-rata jumlah kalus 91,14 %, untuk hari muncul fase globular pemberian metionin paling optimal adalah 81,5 mg/L dengan hari muncul tercepat yaitu 22,7 HST, variabel jumlah tunas membutuhkan metionin paling optimal sebesar 74,3 mg/L dengan jumlah tunas rata-rata 2,7 tunas per eksplan, pemberian metionin untuk panjang tunas yang paling optimal adalah 71,4 mg/L dengan tinggi rata-rata 1 cm, berat planlet rata-rata terberat sebesar 0,03813 dengan konsentrasi optimal metionin sebesar 75 mg/L.
3. Perlakuan metionin 75 mg/L menunjukkan morfologi jumlah tunas paling banyak dan pertumbuhan tunas yang sempurna.

## 5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya diharapkan:

1. Waktu pengamatan hendaknya dilakukan sampai minggu ke 12 (3 bulan) untuk mendapatkan hasil yang lebih baik.
2. Planlet yang sudah tumbuh tunas selanjutnya disubkulturkan dalam media yang mengandung auksin untuk menginduksi pertumbuhan akar.
3. Untuk masyarakat sebaiknya hasil dari penelitian ini dimanfaatkan dengan maksimal untuk menghasilkan bibit jeruk dengan kualitas yang baik.
4. Dosis metionin 75 mg/L bisa digunakan untuk multiplikasi tunas jeruk JC.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Abdullah. 1994. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 1 dan 5. Terjemahan M. Abdul Ghoffar, Abdurrohim Mu'thi, Abu Ihsan Al-Atsari*. Bogor: Pustaka Imam Syafi'i.
- Abidin, Z. 2005. *Dasar-dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuhan*. Bandung : Penerbit Angkasa Press.
- Abidin. 1994. *Dasar–dasar Pengetahuan tentang zat pengatur tumbuh*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Agisimanto, D. 2015. *Thin Cell Layer Mempercepat Pembuatan Populasi Genotip Unggul Hortikultura*. Batu: Balai Penelitian Jeruk dan Buah Subtropika.
- Akhtar, G., M. J. Jaskani., Y. Sajjad., dan A. Akram. 2016. Effect of Antioxidants, Amino Acids and Plant Growth Regulators on *in Vitro* Propagation of *Rosa centifolia*. *Iran Journal Biotech*. 14 (1).
- Al-Jazairi, S. Abu B. J. 2007. *Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar*. Jakarta: Darus Sunnah Press.
- Al-Mahally., Imam, J dan Imam, J.A. 1990. *Tafsir Jalalain Berikut Asbab An-nujulnya, Jilid I*. Bandung,: Sinar Baru
- Al- Maraghi., Ahmad, M. 1993. *Terjemahan Tafsir Al-Maraghi, Jilid III*. Semarang: PT Karya Thoha Putra.
- Al-Qurthubi, Muhammad A. A. 2009. *Tafsir al-Qurthubi*, judul asli *Al Jami' li Ahkam Al Qur'an*, terj. Muhyiddin Masridha. Jakarta Selatan : Pustaka Azzam.
- Altaf, K.A.R, Ali L, Bhatti LA. 2008. *Propagation of Rough Lemon (Citrus Jambhiri Lush.) through In vitro Culture and Adventitious Rooting in Cuttings*. *Electronic Journal of Enviromental Agricultural and Food Chemistry* 7(11): 3326-3333.
- Anggraeni, D. 2003. Pengaruh umur batang bawah jeruk Rough lemon (*Citrus jambhiri* Lush) dan letak penempelan entris terhadap keberhasilan okulasi jeruk manis varietas ansui (*Citrus sinensis* (L) Osbeck). [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

- Ariati. 2012. Pengaruh perimbangan konsentrasi NAA dan kinetin terhadap pertumbuhan tiga varietas anggrek pada media Greener melalui teknik kultur jaringan. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Jember, Jawa timur. (Tidak dipublikasikan).
- Asad S, A Muhammad, M Shahid, Z Yusuf .2009. Effect of various amino acids on shoot regeneration of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Biotechnology*. 8:1214-1218.
- Azriati, E., Ameliza dan Nelfa, Y. 2010. Respon Regenerasi Eksplan Kalus Kedelai (*Glycine max*) terhadap Pemberian NAA secara *In Vitro*. *Jurnal Littri*. Vol 11. No 2.
- Beyl, C.A. 2005. Getting started with tissue culture: media preparation, sterile technique, and laboratory equipment. In Trigiano, R.N. dan D.J. Gray (eds.) *Plant development and biotechnology*. CRC Press. New York. P. 11–37.
- Bhatnagar P., Bhatnagar, M., Nath, AK., dan Sharma, DR. 2004. Production of Solasodine by *Solanum laciniatum* Using Plant Tissue Culture Technique. *Indian Journal Exp Biology*. 42 (10).
- Bollmark, M., Kubat, B dan Eliasson, L. 1988. Variation in Endogenous Cytokinin Content During Adventitious Root Formation in Pea Cuttings. *J. Plant Physiol*. Volume X. Nomor 132.
- Cahyati, S., Mayta, N.I., dan Wahyu, L. 2016. Induksi Tunas dari Eksplan Kotiledon dan Epikotil *In Vitro* Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) asal Kampar pada Media MS. *Jurnal Riau Biologia*. 1(5).
- Campbell NA & Reece JB. 2008. *Biology 8th edition*. Jakarta: Erlangga. 486 hal.
- Davies PJ. 2004. *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action*. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher. 776 hal.
- Devy, N.F. 2008. Perbanyakan 13 Jenis Batang Bawah Serta 5 Jenis Jeruk Asal Pasang Surut secara *In Vitro*. *Prosiding Seminar Nasional*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Devy, N.F., Farida dan Hardiyanto. 2014. Pengaruh Media terhadap Daya Tumbuh Embrio Somatik Jeruk *In Vitro*. *Prosiding Seminar Nasional PERHORTI*. Volume X. Nomor X.
- Dhita, W. 2011. Evaluasi Ketahanan Planlet Mutan Jeruk terhadap Penyakit Busuk Pangkal Batang Jeruk. *Skripsi*. Fakultas Pertanian IPB. Bogor.



- Dobranszkia, J & Teixeira-da-Silva, JA. 2011. Adventitious shoot regeneration from leaf thin cell layers in apple. *Scientia Horticulturae*. no.127. pp. 460-63.
- Druart, P. 1988. *Somatic Embryogenesis in Prunus species*. In: *Somatic Embryogenesis in woody plants*. Dordrecht : Springer.
- El-Din, Karima, M. Gamal., dan M.S.A. Abdul El-Wahed. 2005. Effect of Some Amino Acids on Growth and Essential Oil Content of Chamomile Plant. *International Journal of Agriculture and Biology*. 7 (3).
- Fatmawati, T.A. 2008. *Pertumbuhan organ tanaman buah naga Hylocerus undatus pada medium MS dengan penambahan BAP dan sukrosa*. Jurnal natural science, vol 1 (1):27-33
- Faure, J.-D., & Howell, S.H. (1999). Cytokinin Perception and Signal Transduction. *New Comprehensive Biochemistry*. 461-474. Doi:10.1016/s0167-7306(08)60500-1.
- Fitriani, D., Miswar dan Ummi, S. 2015. Pengaruh Pemberian Asam Amino (Glisin, Sistein dan Arginin) terhadap Pembentukan Tunas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Secara *In Vitro*. *Berkala Ilmiah Pertanian*. Volume X. Nomor X.
- Franklin, G dan Dias, A. C. P. 2006. Organogenesis and Embryogenesis in Several *Hypericum perforatum* Genotypes. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. Volume 42.
- Gaba, V.P. 2005. *Plant growth regulators in plant tissue culture and development*. In Trigiano, R.N dan D.J. Gray (eds.). *Plant development and biotechnology*. New York : CRC Press. P. 87–99
- Gahan, P.B. 2007. *Totipotency and the cell cycle*. In Jain, S.M. & H. Häggman (eds.). *Protocols for micropropagation of woody trees and fruits*. The Netherlands : Springer. P. 3–14
- Gardner, F. P., R. B., Pearce, and R. I. Mitchell. 1991 *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Penerjemah: Susilo, H. Jakarta : UI Press.
- George, E. F dan P.D. Sherring ton. 1984. *Plant Propagation; by Tissue Culture*. England: Exegetics Ltd.
- George, Edwin F. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture Part 1, 2nd Edition*. England: Exegetics Ltd.
- George E.F., Hall M.A. and Klerk G.D.J. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*. Netherland : Springer.

- Guo, B, BH Abbasi, A Zeb, LL Xu, and YH Wei. 2011. Thidiazuron: a multi-dimensional plant growth regulator. *Afric J. Biotech.* 10(45): 8984-9000.
- Hamasaki, R.M., Eduardo, P., dan Helenice, M. 2005. Glutamine Enhances Competence for Organogenesis in Pineapple Leaves Cultivated *In Vitro*. *Brazilian Journal Plant Physiology.* 17(4).
- Hardiyanto, M, dan S. Lestari. 2007. Identifikasi Batang Bawah Jeruk JC (Japanche Citroen) Zigotik dan Nucellar Berdasarkan Morfologi dan Analisis Isozim. *Prosiding Seminar Nasional Jeruk*. Tanpa Volume. Tanpa Nomor.
- Harliana, W., Muslimin, dan I.N Suwastika. 2012. Organogenesis Tanaman Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour.) Secara *In vitro* Pada Media MS Dengan Penambahan berbagai Konsentrasi IAA (Indole AcetidAcid) dan BAP (Benzyl Amino Purin). *Jurnal Natural Science*. Volume 1. Nomor 1.
- Hartadi, H., Reksohadiprodjo, S. dan Tillman A.D. 1986. *Tabel Komposisi Pakan Bioteknologi Tanaman*. PAU : Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman.
- Hartman HT, Kester DE, Davies Jr FT, Geneve RL. 2002. *Plant propagation: Principles and practices*. 7th ed. New Jersey : Pearson Education INC.
- Heriansyah, P., T. Sagarti, Rover. 2014. Pengaruh pemberian myoinositol dan arang aktif pada media sub kultur jaringan tanaman anggrek (*Dendrobium sp.*). *J. Agroteknologi*. 5(1). 7 hlm.
- Hesse, H., Oliver, K., Stefanie, M., Michaela, Z dan Rainer, H. 2004. Current Understanding of the Regulation of Methionine Biosynthesis in Plants. *Journal of Experimental Botany*. Volume 55. Nomor 404.
- Hidayati, N., Wahyu, L., dan Mayta, N.I. 2014. Induksi Tunas *In Vitro* Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) Asal Kampar dari Eksplan Tunas Apeks dan Nodus *In Vitro*. *JOM FMIPA*.1 (2).
- Husni, A., I. Mariska, dan M. Kosmiatin. 1997. Embriogenesis somatik tanaman lada liar. Makalah Seminar Mingguan Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor, 5 September 1997.
- Jain, S.M., Pramod, K., Gupta dan Ronald, J. Newton. 1995. *Somatic Embryogenesis in Woody Plants*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Jusuf, M. 2001. *Genetika I: Struktur dan Ekspresi Gen*. Jakarta: CV. Sagung Seto.

- Kalimuthu, K, Paulsamy, R, Senthilkumar, S & Sathya, M 2007, In vitro propagation of the biodiesel plant *Jatropha curcas* L., *Plant Tissue Cult. & Biotech.* 17(2):137–147.
- Karismawati, D. 2006. Pengaruh Komposisi Media dan Macam Zat Pengatur Tumbuh terhadap Peningkatan Nilai Estetika Bonggol Setek Adenium (*Adenium* sp). Skripsi S1 Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Karjadi, A.K., dan Buchory, A. 2007. Pengaruh Penambahan Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan Tunas Bawang Putih. *Jurnal Hortikultura.* 17 (4).
- Karjadi, A.K. 2016. *Kultur Jaringan dan Mikropropagasi Tanaman Kentang (Solanum tuberosum L)*. Bandung: Balai Penelitian Tanaman Sayuran.
- Khattab, M., Ashraf S., E.A El-Saadate dan K Al-Hasni. 2016. Effect of Glycine, Methionine and Tryptophan on the Vegetative Growth, Flowering and Corms Production of *Gladiolus* Plant. *Alexandria Science Exchange Journal.* 37 (4).
- Konate S., Kone M., Kouakou HT., Kouadio JY dan Zouzou M. 2013. Callus induction and proliferation from cotyledon explants in bambara groundnut. *African Crop. Sci. J*, 21(3): 255-263.
- Kumar, G., Himanshu C., Durg V.R., dan Jayanand. 2014. Nutritional Quality Enhancement of Plants by Improving Its Methionine Content. *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences.* Volume 3. Nomor 2.
- Kumar, P.P., D.M. Reid, dan T.A. Thorpe. 1987. The Role of Ethylene and Carbon Dioxide in Differentiation of Shoot Buds in Excised Cotyledons of *Pinus radiata* In Vitro. *Physiologi Plantarum* 64.
- Leupin, E. 2000. Somatic embryogenesis from leaf callus devired from maturetress of the cycad *Ceratozamia hildae* (Gymnospermae). *Journal Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* vol 40:25-31.
- Lu, C-Y. 1993. The use of Thidiazuron in tissue culture, *In Vitro Cellular & Developmental Biology* 29:92–96.
- Manuhara, Y.S.W. 2014. *Kapita Selektta Kultur Jaringan Tumbuhan*. Surabaya: Universitas Airlangga Press.
- Mariani, T.S., H.Miyake, R.R.Esyanti, and I.Nurwendah.2003. Effect of 2,4-D on Indirect Somatic embryogenesis and Surface Structural Changes in Garlic (*Allium sativum* L.) c.v.Lumbu Hijau.. *Jurnal Matematika dan Sains.* Vol.8 No.4 : 133-139.

- Martasari, C dan H. Mulyanto. 2008. Teknik Identifikasi Varietas Jeruk. *Iptek Hortikultura*. Volume X. Nomor 4.
- Mitsui S, Wakasugi T, Sugiura M (1993) A cDNA encoding the 57 kDa subunit of a cytokinin-binding protein complex from tobacco: the subunit has high homology to S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase. *Plant Cell Physiol* 34:1089–1096.
- Mulyanto, H. 2014. *Prospek Berkebun Jeruk JC (Japansche Citroen)*. Balai Penelitian Jeruk dan Buah Subtropika , Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. <http://balitjestro.litbang.pertanian.go.id/prospek-berkebun-jeruk-jc-japanche-citroen/>. (Diakses pada 05 Oktober 2017).
- Murthy, B.N.S., Murch, S.J., Saxena, P.K., 1998. Thidiazuron: a potent regulator of in vitro plant morphogenesis. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 4, 267–275.
- Naing, A.H., Chang K.K., Baek J.Y., Jo Y.J dan Ki B.L. 2013. Primary and Secondary Somatic Embryogenesis in *Chrysanthemum* cv. Euro. *Plant Cell Tissue Organ Culture*. Volume X. Nomor 112.
- Nalia, A. 2009. *Perbanyak Tanaman Jeruk Keprok (Citrus Nabilus Lour) dengan Teknik Okulasi*. Skripsi. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Niyomdham, C. 1997. *Citrus maxima* (Burm.) Merr. Hal. 153-157. Dalam E. W. M. Verheij dan R. E. Coronel. Buah-buahan yang dapat dimakan. Gramedia. Jakarta.
- Nugrahani, P., Sukendah dan Makziah. 2011. *Regenerasi Eksplan Melalui Organogenesis dan Embriogenesis Somatik*. Surabaya : Universitas Pembangunan Nasional “Veteran”.
- Nursetiadi, E. 2008. *Kajian Macam Media dan Konsentrasi BAP terhadap Multiplikasi Tanaman Manggis (Garcinia mangostana L.)*. Skripsi. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Pandiangan, D., Tilaar, W., Karyono., Esyanti., dan Subarnas. 2011. Respon Pertumbuhan, kadar Protein dan Aktivitas Triptofan Dekarboksilase Agregat Sel *Catharanthus roseus* (L) G. Don yang diberi Prekursor Triptopan. *Bionatura- Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*. 13 (1).
- Parera. 1997. Pengaruh tingkat konsentrasi pertumbuhan perbanyak tanaman anggrek dendrobium melalui teknik kultur jaringan. *J. Ilmu Pengetahuan dan Teknologi* 2:57-64.



- Pierik, R., 1997. *In Vitro Culture of Higher Plant*. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher.
- Pramanik, D dan F. Rachmawati. 2010. Pengaruh Jenis Media Kultur *In Vitro* dan Jenis Eksplan terhadap Morfogenesis Lili Oriental. *Jurnal Hortikultura*. Volume 20. Nomor 2.
- Pranata, A.S. 2010. *Meningkatkan Hasil Panen Dengan Pupuk Organik*. Jakarta : AgroMedia Pustaka.
- Pratomo, S. 2010. Analisis Peran Sektor Pertanian Sebagai Sektor Unggulan di Kabupaten Boyolali. Skripsi. FE UNS. Surakarta.
- Prawiranata, W.S. Haran dan P. Tjondronegoro. 1981. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Botani IPB. Bogor.
- Purba, S.T. 2017. Pengaruh BAP dan IAA pada Perbanyak Tunas Krisan (*Chrysanthemum morifolium* R.) Secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Kohesi*. Volume 1. Nomor 1.
- Purnamaningsih, R. 2002, Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. *Buletin AgroBio* 5(2):51–58.
- Purwati, RD 2010, Perbanyak tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) melalui kultur in vitro, Prosiding Lokakarya Nasional V Inovasi Teknologi dan Cluster Pioneer menuju DME Berbasis Jarak Pagar, Tunggal Mandiri Publishing, Malang, hlm. 92–101.
- Putra, E. 2011. Kualitas Papan Partikel Batang Bawah, Batang Atas dan Cabang Kayu Jabon (*Anthocephalus cadamba* Miq.). Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Raemarkers, C.J.J,M, Jacobsen, E., dan Visser, R.G.F. 1995. Secondary Somatic Embryogenesis and Applications in Plant Breeding. *Euphytica*. Volume 81. Nomor 1.
- Rahayu, Y. Rostiwati dan Rodinah. 2003. Analisis pengaruh kandungan karbohidrat terhadap warna kalus secara *in vitro*. *Jurnal menara pertanian*, vol 73 (2):33-40.
- Rahayuni, T dan Hadijah S. 1996. Studi Pengaruh Berbagai Jenis Batang Bawah terhadap Keberhasilan Okulasi Tanaman Jeruk. Laporan Akhir Penelitian. Fakultas Pertanian Universitas Tanjungpura Pontianak. 54 halaman.



- Ramaida, J.E. 2018. Produksi Jeruk Diprediksi 3,2 Juta Ton. *Bisnis.Com*. 17 Juli 2018.
- Rasud, Y., Sri U., dan Baharin. 2015. Pertumbuhan Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) dengan Penambahan berbagai Konsentrasi Sitokinin secara *In Vitro*. *Jurnal Agroland*. 22 (3).
- Ravanel, S., Block, M.A., Rippert, P., Jabrin, S., Curien, G., Rebeille, F., dan Douce, R. (2004). Methionine Metabolism in Plants. *Journal of Biological Chemistry*. 279(21). Doi: 10.1074/jbc.m313250200.
- Rezkianti, V., Maemunah dan Irwan L. 2016. Identifikasi Morfologi dan Anatomi Jeruk Lokal (*Citrus* sp.) di Desa Hangira dan Desa Baleura Kecamatan Lore Tengah Kabupaten Poso. *e-Jurnal Agroteknologi Bisnis*. Volume 4. Nomor 4.
- Rosmarkam, A dan Nasih, W.Y. 2002. *Ilmu Kesuburan Tanah*. Yogyakarta: Kanisius.
- Rostiana O. 2002. *Aplikasi Sitokinin Tipe Purin dan Urea Pada Multiplikasi Tunas Anis (Pimpinella anisum L.) in vitro*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Obar Aromatik.
- Saad, A.I.M. and Ahmed, M.E. 2012. Plant tissue culture media. *World's Largest Science, Technology and Medicine*. 29-40
- Saad, A.I.M., dan Ahmed, M.E. 2012. Plant Tissue Culture Media Chapter 2. *INTECH*. Doi : 10.5772/50569.
- Sadeq, M.A., Malabika, R.P., Ahmed A.S., Mohammed Abido dan Asma Abahussain. 2014. Somatic Embryogenesis and Organogenesis for Regeneration of Endangered Multipurpose Desert Plant *Leptadenia pyrotechnica* Forsk. Decne in the Kingdom of Bahrain. *American Journal of Plant Sciences*. Volume X. Nomor 5.
- Sadik, K., P. R. Rubaihayo, M. J. S. Magambo dan M. Pillay. 2006. Generation of cell suspensions of East African highland bananas through scalps. *African Journal of Biotechnology* 6(11) : 1352-1357.
- Salisbury, F.B dan Ross C.W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. (Diterjemahkan oleh Diah R. L. dan Sumaryono). Bandung : Penerbit ITB.
- Samson, J. A. 1992. *Tropical Fruits, 2nd Edition*.. New York: Longman Scientific and Technical.
- Santoso, Begot. 2007. *Biologi*. Bekasi :Interplus.

- Santoso, U. dan F. Nursandi. 2004. *Kultur jaringan tanaman*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.
- Sarker, K K., A.H. Kabir., S.A. Sharmin, Z. Nasrin. 2007. Improved Somatic Embryogenesis Using L-Asparagine in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Sjemenarstvo*. Nomor 24.
- Sen, J., Sanjeev K dan Sipra G.M. 2002. Level of Endogenous Free Amino Acids During Various Stage of Culture of *Vigna mungo* (L.) Hepper-Somatic Embryogenesis, Organogenesis and Plant Regeneration. *Current Science*. 4 (82).
- Shan, Z., Krit R., Emmanouil., dan Tzitzikas. 2005. Development of a Highly Efficient, Repetitive System of Organogenesis in Soybean (*Glycine max* L.). *Plant Cell Repetitive*. Volume 24.
- Sianipar, N. F., Wattimena G.A., Aswidinnoor H., Thenawidjaya M., Mathius N.T., dan Ginting G. 2007. Karakterisasi secara morfologi abnormalitas embrio somatik kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) dari eksplan daun. *Jurnal Agrobiogen* 3 (1) : 32 – 39.
- Situmeang, H.P., Asil, B., dan Irsal. 2015. Pengaruh Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh dan Sumber Bud chips terhadap Pertumbuhan Bibit Tebu (*Saccharum officinarum* L.) di Pottray. *Jurnal Online Agroekoteknologi* . ISSN No. 2337- 6597 Vol.3, No.3 : 992 - 1004, Juni 2015.
- Soelarso, B.1996. *Budi daya Jeruk Bebas Penyakit*. Jakarta : Kanisius.
- Srivastava, L.M. 2002. Plant growth and development, hormon and environment. Academic Press. London. 772 p
- Steinmacher, DA., Krohn NG., Danras ACM., Stefenon VM., Clement CR & Guerra MP. 2007. Somatic embryogenesis in peach palm using the thin cell layer technique: induction, morpho-histological aspects and AFLP analysis of somaclonal variation. *Annals of Botany*. no.100. pp. 699-9.
- Sucandra, A., Fetmi, S dan Arnis, E.Y. 2015. Uji Pemberian Beberapa Konsentrasi Glisin pada Media VW terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek (*Dendrobium* sp.) secara *In Vitro*. *Jom Faperta*. 2 (1).
- Sugimoto, M., Hidehiko T., and Nobutade M. 2017. Molecular Characterization of Barley Methionine –Lyase and Gene Expression by Abiotic Stress and Aspartate Family Amino Acids. *Journal of Plant Biochemistry & Physiology*. Volume 5. Nomor 3.

- Sugiyarto, M. 1994. Deskripsi Beberapa Varietas Batang Bawah dan Varietas Jeruk Komersial. Balit. Hort. Solok. 20 hal.
- Suharijanto. 2011. Induksi Tunas Jeruk Pamelon (*Citrus maxima* Merr.) Kultivar Bageng Secara *In Vitro* dengan Pemberian Jenis dan Konsentrasi Sitokinin. Tesis. Program Studi Agronomi Fakultas Pasca Sarjana Universitas Sebelas Maret.
- Suharsih, T.K dan Ananda, D.P.S. 2013. Pertumbuhan Mata Tunas jeruk Keprok (*Citrus nobilis*) hasil Okulasi pada Berbagai Media Tanam dan Umur Batang Bawah. *Jurnal Ilmu Perbanyakan Indonesia*. 18 (2).
- Sukmadjaja, D dan Ika, M. 2003. *Perbanyakan Bibit Jati melalui Kultur Jaringan*. Bogor: Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.
- Sulichantini, E.D. 2016. Pengaruh Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh terhadap Regenerasi Bawang Putih (*Allium sativum* L) Secara Kultur Jaringan. *Jurnal AGRIFOR*. 15 (1).
- Supriyanto, A. 2000. *Budidaya Jeruk Besar*. Batu: IPPTP.
- Surachman, D dan Aisyah, S. 2011. Teknik Sterilisasi Rimpang Jahe Sebagai Bahan Perbanyakan Tanaman Jahe Sehat. *Buletin Teknik Pertanian*. Volume 16. Nomor 1.
- Susanto, S. 2003. Pertumbuhan dan pembuahan jeruk besar 'Cikoneng' pada beberapa jenis batang bawah. *Ilmu Pertanian* 10 (1): 57-63.
- Swingle, W.T., Reece, P.C. 1967. The Botany of Citrus and Its Wild Relatives. <http://websites.lib.ucr.edu/agric/webber/Vol1/Chapter3.html>. Diakses tanggal 2 Juni 2014.
- Taiz L & Zeiger E. 2003. *Plant physiology 3rd edition*. Massachusetts: Sinauer Associates. 623 hal.
- Taiz, L. and. Zeigler. 1998. *Plant Physiology*. Sunderland : Sinauer Associates, Inc. Publishers.
- Tefera, W & Wannakrairoj, S 2006, Synergistic effects of some plant growth regulators on in vitro shoot proliferation of korarima (*Aframomum corrorima* (Braun) Jansen), *African Journal of Biotechnology* 5(10):1894–1901.
- Teixeira-da-Silva, JA & Dobranszki, J. 2013. 'Plant thin cell layers: A 40-year celebration'. *Journal Plant Growth Regulator*. no. 32, pp. 922-43.
- Thao, N. T. O dan Ozaky, Y. 2003. Callus Induction and Planlets Regeneration in Ornamental *Alocasia micholitziana*. *Journal Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 73 : 285-289.

- Thorpe, T.A. 1996. *In vitro Embryogenesis in Plants*. Canada: Library of Congress Cataloging in Publication Data.
- Tim Mekarsari. 2003. *Ensiklopedia Buah Jeruk*. Jakarta :Grasindo.
- Trigiano, R.N. & D.J. Gray. 2005. A brief introduction to plant anatomy. In: Trigiano, R.N. & D.J. Gray (eds.) *Plant development and biotechnology*. CRC Press. New York. P. 87–99.
- Tuhuteru, S, M.L Hehanussa dan S.H.T Raharjo. 2012. Pertumbuhan dan Perkembangan Anggrek (*Dendrobium anosmum*) pada Media Kultur *In Vitro* dengan Beberapa Penambahan Konsentrasi Air Kelapa. *Agrologia*. Volume 1. Nomor 1.
- Turhan, H. 2004. Callus Induction and Growth In Transgenik Potato Genotypes. *African Journal of Biotechnology*. 3 (8)= 375-378
- Umehara, M., Miho, I dan Hiroshi, K. 2007. Endogenous Factors that Regulate Plant Embryogenesis: Recent Advances. *Japanese Journal of Plant Science*. Volume 1. Nomor 1.
- USDA, ARS, National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network - (GRIN) [Online Database]. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. URL: <http://www.arsgrin.gov/cgi-bin/npgs/html/family.pl?2385>. Diakses Tanggal 04 Juli 2014.
- Wahyudi, E., Indah, P dan Ervina, A. 2017. Perbedaan Batang Bawah dan Masa Penyimpanan Entres Terhadap Pertumbuhan Okulasi Bibit Jeruk Siam Madu (*Citrus nobilis*). *Jurnal Agroteknologi*. Volume 8. Nomor 1.
- Wattimena, GA. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan
- Wattimena. 1998. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor: PAU.
- Widodo, W dan Sri, S. 2007. *Jarak Kepyar*. Yogyakarta : Kanisius.
- Wilkins, M.B. 1989. *Fisiologi Tanaman*. Penerjemah Sutedjo M.M dan Kartasapoetra A.G. Jakarta : Penerbit Bumi Aksara
- Willke, Thomas. 2015. *Methionine Production- a Critical Review*. German: Institute of Agricultural Technology.
- Yong, Jean W. H., Liya Ge., Yan Fei Ng and Swee Ngin Tan. 2009. *Chemical Composition and Biological Properties of Coconut (Cocos nucifera L.)*. Singapore. Water : Nanyang University.

- Yuliarti, N. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Yuniastuti, S., Soegito dan Rebin. 1992. Kombinasi Batang Atas dan Batang Bawah pada Pembibitan Anggur dengan Okulasi. *Jurnal Hortikultura*. Volume 2. Nomor 1.
- Zemanova, V, M Pavlik, D. Pavlikova, P Tlustos. 2014. The Significance of Methionine, Histidine and Tryptophan in Plant Responses and Adaptation to Cadmium Stress. *Plant Soil Environ*. Volume 60. Nomor 9.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Jakarta: Bumi Aksara.





## Lampiran 1. Data Hasil Pengamatan

### 1. Data Pengamatan Persen Eksplan Kalus

| No        | R | S | Perlakuan Metionin |            |            |            |             |             |             |
|-----------|---|---|--------------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|
|           |   |   | 0<br>mg/L          | 25<br>mg/L | 50<br>mg/L | 75<br>mg/L | 100<br>mg/L | 125<br>mg/L | 150<br>mg/L |
| 1         | 1 | 1 | 0                  | 4          | 10         | 10         | 8           | 8           | 6           |
|           |   | 2 | 4                  | 3          | 10         | 10         | 9           | 10          | 6           |
|           |   | 3 | 6                  | 5          | 10         | 9          | 8           | 9           | 5           |
|           |   | 4 | 5                  | 4          | 10         | 9          | 9           | 8           | 4           |
| Rata-rata |   |   | 37,5               | 40         | 100        | 95         | 85          | 87,5        | 52,5        |
| 2         | 2 | 1 | 7                  | 6          | 8          | 9          | 7           | 7           | 2           |
|           |   | 2 | 4                  | 8          | 7          | 8          | 9           | 7           | 4           |
|           |   | 3 | 4                  | 8          | 7          | 8          | 7           | 8           | 5           |
|           |   | 4 | 5                  | 5          | 8          | 7          | 7           | 7           | 3           |
| Rata-rata |   |   | 50                 | 67,5       | 75         | 80         | 75          | 72,5        | 35          |
| 3         | 3 | 1 | 0                  | 5          | 6          | 9          | 10          | 7           | 3           |
|           |   | 2 | 2                  | 4          | 8          | 8          | 9           | 10          | 5           |
|           |   | 3 | 0                  | 3          | 7          | 8          | 10          | 8           | 4           |
|           |   | 4 | 0                  | 5          | 7          | 7          | 9           | 6           | 5           |
| Rata-rata |   |   | 5                  | 42,5       | 70         | 80         | 95          | 77,5        | 42,5        |
| 4         | 4 | 1 | 4                  | 9          | 7          | 10         | 8           | 9           | 6           |
|           |   | 2 | 3                  | 9          | 8          | 9          | 10          | 6           | 6           |
|           |   | 3 | 4                  | 8          | 7          | 10         | 9           | 9           | 6           |
|           |   | 4 | 3                  | 10         | 9          | 9          | 9           | 7           | 5           |
| Rata-rata |   |   | 35                 | 90         | 77,5       | 95         | 90          | 77,5        | 57,5        |
| 5         | 5 | 1 | 8                  | 5          | 7          | 9          | 6           | 4           | 3           |
|           |   | 2 | 9                  | 6          | 10         | 8          | 4           | 6           | 2           |
|           |   | 3 | 9                  | 6          | 8          | 10         | 4           | 5           | 3           |
|           |   | 4 | 8                  | 7          | 10         | 8          | 6           | 5           | 2           |
| Rata-rata |   |   | 85                 | 60         | 87,5       | 87,5       | 50          | 50          | 25          |

## 2. Data Pengamatan Hari Muncul Fase Globular

| No | R         | S | Perlakuan Metionin |            |            |            |             |             |             |
|----|-----------|---|--------------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|
|    |           |   | 0<br>mg/L          | 25<br>mg/L | 50<br>mg/L | 75<br>mg/L | 100<br>mg/L | 125<br>mg/L | 150<br>mg/L |
| 1  | 1         | 1 | 35                 | 32         | 25         | 21         | 30          | 34          | 45          |
|    |           | 2 | 37                 | 30         | 25         | 19         | 29          | 40          | 47          |
|    |           | 3 | 40                 | 37         | 27         | 19         | 30          | 30          | 50          |
|    |           | 4 | 50                 | 40         | 30         | 21         | 32          | 35          | 50          |
|    | Rata-rata |   | 40,5               | 34,75      | 26,75      | 20         | 30,25       | 34,75       | 48          |
| 2  | 2         | 1 | 41                 | 33         | 20         | 20         | 29          | 35          | 44          |
|    |           | 2 | 50                 | 37         | 23         | 23         | 28          | 40          | 35          |
|    |           | 3 | 47                 | 35         | 25         | 24         | 30          | 38          | 47          |
|    |           | 4 | 42                 | 36         | 25         | 18         | 30          | 30          | 48          |
|    | Rata-rata |   | 45                 | 35,25      | 23,25      | 21,25      | 29,25       | 35,75       | 43,5        |
| 3  | 3         | 1 | 51                 | 37         | 28         | 23         | 30          | 35          | 45          |
|    |           | 2 | 45                 | 35         | 31         | 23         | 28          | 32          | 42          |
|    |           | 3 | 36                 | 37         | 28         | 21         | 28          | 30          | 43          |
|    |           | 4 | 36                 | 33         | 28         | 21         | 30          | 35          | 40          |
|    | Rata-rata |   | 42                 | 35,5       | 28,75      | 22         | 29          | 33          | 42,5        |
| 4  | 4         | 1 | 37                 | 37         | 14         | 20         | 30          | 30          | 41          |
|    |           | 2 | 36                 | 37         | 25         | 22         | 32          | 39          | 42          |
|    |           | 3 | 40                 | 35         | 20         | 22         | 30          | 38          | 42          |
|    |           | 4 | 40                 | 34         | 20         | 20         | 30          | 35          | 38          |
|    | Rata-rata |   | 38,25              | 35,75      | 19,75      | 21         | 30,5        | 35,5        | 40,75       |
| 5  | 5         | 1 | 52                 | 34         | 24         | 14         | 30          | 38          | 41          |
|    |           | 2 | 37                 | 38         | 28         | 16         | 31          | 30          | 38          |
|    |           | 3 | 40                 | 37         | 31         | 17         | 27          | 32          | 36          |
|    |           | 4 | 40                 | 37         | 35         | 20         | 31          | 38          | 38          |
|    | Rata-rata |   | 42,25              | 36,5       | 29,5       | 16,75      | 29,75       | 34,5        | 38,25       |

## 3. Data Pengamatan Jumlah Tunas

| No        | R | S | Perlakuan Metionin |            |            |            |             |             |             |
|-----------|---|---|--------------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|
|           |   |   | 0<br>mg/L          | 25<br>mg/L | 50<br>mg/L | 75<br>mg/L | 100<br>mg/L | 125<br>mg/L | 150<br>mg/L |
| 1         | 1 | 1 | 0                  | 0          | 5          | 12         | 6           | 3           | 0           |
|           |   | 2 | 0                  | 0          | 6          | 10         | 3           | 2           | 0           |
|           |   | 3 | 0                  | 0          | 8          | 13         | 5           | 0           | 0           |
|           |   | 4 | 0                  | 0          | 5          | 11         | 6           | 5           | 0           |
| Rata-rata |   |   | 0                  | 0          | 6          | 11,5       | 5           | 2,5         | 0           |
| 2         | 2 | 1 | 0                  | 0          | 5          | 9          | 4           | 3           | 0           |
|           |   | 2 | 0                  | 0          | 4          | 8          | 5           | 4           | 0           |
|           |   | 3 | 0                  | 0          | 7          | 8          | 6           | 5           | 0           |
|           |   | 4 | 0                  | 0          | 8          | 11         | 7           | 4           | 0           |
| Rata-rata |   |   | 0                  | 0          | 6          | 9          | 5,5         | 4           | 0           |
| 3         | 3 | 1 | 0                  | 0          | 5          | 9          | 5           | 0           | 0           |
|           |   | 2 | 0                  | 0          | 6          | 10         | 6           | 0           | 0           |
|           |   | 3 | 0                  | 0          | 8          | 8          | 3           | 0           | 0           |
|           |   | 4 | 0                  | 0          | 7          | 8          | 2           | 0           | 0           |
| Rata-rata |   |   | 0                  | 0          | 6,5        | 8,75       | 4           | 0           | 0           |
| 4         | 4 | 1 | 0                  | 0          | 4          | 8          | 2           | 3           | 0           |
|           |   | 2 | 0                  | 0          | 9          | 9          | 3           | 2           | 0           |
|           |   | 3 | 0                  | 0          | 6          | 10         | 5           | 4           | 0           |
|           |   | 4 | 0                  | 0          | 7          | 7          | 2           | 5           | 0           |
| Rata-rata |   |   | 0                  | 0          | 6,5        | 8,5        | 3           | 3,5         | 0           |
| 5         | 5 | 1 | 0                  | 0          | 7          | 10         | 5           | 0           | 0           |
|           |   | 2 | 0                  | 0          | 7          | 9          | 3           | 0           | 0           |
|           |   | 3 | 0                  | 0          | 7          | 9          | 4           | 0           | 0           |
|           |   | 4 | 0                  | 0          | 9          | 8          | 4           | 0           | 0           |
| Rata-rata |   |   | 0                  | 0          | 7,5        | 7,5        | 4           | 0           | 0           |

## 4. Data Pengamatan Panjang Tunas

| No        | R | Tunas<br>ke | Perlakuan |    |      |      |      |      |    |
|-----------|---|-------------|-----------|----|------|------|------|------|----|
|           |   |             | M0        | M1 | M2   | M3   | M4   | M5   | M6 |
| 1         | 1 | 1           | 0         | 0  | 0,6  | 1    | 0,6  | 0,6  | 0  |
|           |   | 2           | 0         | 0  | 0,6  | 0,7  | 0,4  | 0,6  | 0  |
|           |   | 3           | 0         | 0  | 0,7  | 1    | 0,4  | 0,5  | 0  |
|           |   | 4           | 0         | 0  | 0,5  | 0,7  | 0,5  | 0,4  | 0  |
|           |   | 5           | 0         | 0  | 0,7  | 0,6  | 0,4  | 0,5  | 0  |
| RATA-RATA |   |             | 0         | 0  | 0,62 | 0,8  | 0,46 | 0,52 | 0  |
| 2         | 2 | 1           | 0         | 0  | 0,8  | 2,2  | 0,4  | 0,2  | 0  |
|           |   | 2           | 0         | 0  | 0,6  | 2    | 0,2  | 0,2  | 0  |
|           |   | 3           | 0         | 0  | 0,6  | 1    | 0,3  | 0,3  | 0  |
|           |   | 4           | 0         | 0  | 0,8  | 1,2  | 0,4  | 0,2  | 0  |
|           |   | 5           | 0         | 0  | 0,7  | 1,3  | 0,5  | 0,1  | 0  |
| RATA-RATA |   |             | 0         | 0  | 0,7  | 1,54 | 0,36 | 0,2  | 0  |
| 3         | 3 | 1           | 0         | 0  | 0,6  | 0,8  | 0,5  | 0    | 0  |
|           |   | 2           | 0         | 0  | 0,6  | 0,9  | 0,6  | 0    | 0  |
|           |   | 3           | 0         | 0  | 0,5  | 1    | 0,4  | 0    | 0  |
|           |   | 4           | 0         | 0  | 0,6  | 0,7  | 0,5  | 0    | 0  |
|           |   | 5           | 0         | 0  | 0,5  | 0,6  | 0,5  | 0    | 0  |
| RATA-RATA |   |             | 0         | 0  | 0,56 | 0,8  | 0,5  | 0    | 0  |
| 4         | 4 | 1           | 0         | 0  | 0,6  | 0,7  | 0,2  | 0,6  | 0  |
|           |   | 2           | 0         | 0  | 0,7  | 0,5  | 0,3  | 0,6  | 0  |
|           |   | 3           | 0         | 0  | 0,5  | 0,8  | 0,3  | 0,4  | 0  |
|           |   | 4           | 0         | 0  | 0,3  | 0,4  | 0,2  | 0,2  | 0  |
|           |   | 5           | 0         | 0  | 0,4  | 0,7  | 0    | 0,5  | 0  |
| RATA-RATA |   |             | 0         | 0  | 0,5  | 0,62 | 0,2  | 0,46 | 0  |
| 5         | 5 | 1           | 0         | 0  | 0,8  | 0,9  | 0,4  | 0    | 0  |
|           |   | 2           | 0         | 0  | 0,7  | 0,7  | 0,3  | 0    | 0  |
|           |   | 3           | 0         | 0  | 0,6  | 0,8  | 0,6  | 0    | 0  |
|           |   | 4           | 0         | 0  | 0,4  | 0,6  | 0,4  | 0    | 0  |
|           |   | 5           | 0         | 0  | 0,4  | 0,9  | 0,6  | 0    | 0  |
| RATA-RATA |   |             | 0         | 0  | 0,58 | 0,78 | 0,46 | 0    | 0  |

## 5. Data Pengamatan Berat planlet

| Perlakuan | ulangan | Nomor Eksplan |        |        |        |        |        |        |        |        |        | Rata-rata |
|-----------|---------|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-----------|
|           |         | 1             | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      | 10     |           |
| 0 mg/L    | 1       | 0,0074        | 0,0073 | 0,0062 | 0,0064 | 0,0066 | 0,0075 | 0,0073 | 0,0065 | 0,0062 | 0,0072 | 0,00686   |
|           | 2       | 0,0068        | 0,0078 | 0,0079 | 0,0085 | 0,0076 | 0,0079 | 0,011  | 0,0086 | 0,0095 | 0,0084 | 0,0084    |
|           | 3       | 0,0054        | 0,0049 | 0,0058 | 0,006  | 0,0062 | 0,0057 | 0,0057 | 0,0047 | 0,0046 | 0,0042 | 0,00532   |
|           | 4       | 0,0113        | 0,0138 | 0,0132 | 0,011  | 0,0118 | 0,0202 | 0,0143 | 0,0189 | 0,0159 | 0,0216 | 0,0152    |
|           | 5       | 0,0367        | 0,0232 | 0,0286 | 0,0392 | 0,0333 | 0,0352 | 0,0211 | 0,0321 | 0,0247 | 0,0259 | 0,03      |
| 25 mg/L   | 1       | 0,0271        | 0,0363 | 0,0385 | 0,03   | 0,0311 | 0,032  | 0,0411 | 0,0282 | 0,0328 | 0,0312 | 0,03283   |
|           | 2       | 0,0158        | 0,0255 | 0,0226 | 0,0315 | 0,0423 | 0,041  | 0,0342 | 0,0331 | 0,0326 | 0,021  | 0,02996   |
|           | 3       | 0,0371        | 0,0431 | 0,0365 | 0,0346 | 0,0359 | 0,039  | 0,0354 | 0,0438 | 0,0376 | 0,037  | 0,038     |
|           | 4       | 0,0327        | 0,0231 | 0,024  | 0,0279 | 0,0344 | 0,0244 | 0,0264 | 0,044  | 0,0371 | 0,026  | 0,03      |
|           | 5       | 0,0097        | 0,0211 | 0,013  | 0,0089 | 0,0158 | 0,0191 | 0,0078 | 0,0091 | 0,011  | 0,018  | 0,01335   |
| 50 mg/L   | 1       | 0,0553        | 0,0525 | 0,0411 | 0,0321 | 0,032  | 0,03   | 0,0365 | 0,0391 | 0,0327 | 0,0487 | 0,04      |
|           | 2       | 0,028         | 0,0237 | 0,018  | 0,0211 | 0,016  | 0,0171 | 0,0081 | 0,0134 | 0,02   | 0,0346 | 0,02      |
|           | 3       | 0,0464        | 0,0367 | 0,0394 | 0,0511 | 0,0396 | 0,0427 | 0,0289 | 0,0253 | 0,0539 | 0,036  | 0,04      |
|           | 4       | 0,0555        | 0,0526 | 0,0522 | 0,055  | 0,0276 | 0,0446 | 0,0425 | 0,0323 | 0,0377 | 0,05   | 0,045     |
|           | 5       | 0,0112        | 0,0251 | 0,0124 | 0,0262 | 0,0252 | 0,0354 | 0,0405 | 0,0441 | 0,0429 | 0,037  | 0,03      |
| 75 mg/L   | 1       | 0,0651        | 0,0443 | 0,0552 | 0,046  | 0,0533 | 0,0568 | 0,0629 | 0,0413 | 0,0451 | 0,03   | 0,05      |
|           | 2       | 0,0392        | 0,0623 | 0,0541 | 0,0375 | 0,0382 | 0,0611 | 0,0573 | 0,0421 | 0,0548 | 0,0534 | 0,05      |
|           | 3       | 0,0194        | 0,0212 | 0,0211 | 0,0191 | 0,0213 | 0,023  | 0,0222 | 0,018  | 0,0145 | 0,0202 | 0,02      |
|           | 4       | 0,0291        | 0,038  | 0,0287 | 0,035  | 0,0342 | 0,0273 | 0,029  | 0,0257 | 0,0254 | 0,0276 | 0,03      |
|           | 5       | 0,0513        | 0,0511 | 0,0372 | 0,0418 | 0,0424 | 0,0621 | 0,054  | 0,056  | 0,0514 | 0,0527 | 0,05      |
| 100 mg/L  | 1       | 0,0478        | 0,0548 | 0,0526 | 0,0465 | 0,0479 | 0,0492 | 0,0466 | 0,0523 | 0,0561 | 0,0462 | 0,05      |
|           | 2       | 0,0385        | 0,0392 | 0,0351 | 0,0424 | 0,0429 | 0,0411 | 0,0371 | 0,04   | 0,0417 | 0,042  | 0,04      |
|           | 3       | 0,0225        | 0,026  | 0,0271 | 0,0414 | 0,0291 | 0,0211 | 0,0241 | 0,0276 | 0,0211 | 0,02   | 0,026     |
|           | 4       | 0,0263        | 0,0261 | 0,0248 | 0,0211 | 0,0271 | 0,0267 | 0,0239 | 0,0252 | 0,0272 | 0,0216 | 0,025     |
|           | 5       | 0,0186        | 0,0211 | 0,0251 | 0,0281 | 0,0226 | 0,0128 | 0,0233 | 0,021  | 0,0132 | 0,0142 | 0,02      |
| 125 mg/L  | 1       | 0,0572        | 0,0421 | 0,0511 | 0,0398 | 0,0481 | 0,0444 | 0,0411 | 0,0431 | 0,0587 | 0,0544 | 0,048     |
|           | 2       | 0,011         | 0,0075 | 0,0314 | 0,0165 | 0,0184 | 0,0132 | 0,0142 | 0,0174 | 0,0111 | 0,0123 | 0,0153    |
|           | 3       | 0,0256        | 0,0164 | 0,013  | 0,0121 | 0,01   | 0,0112 | 0,0133 | 0,0294 | 0,0123 | 0,0187 | 0,0162    |
|           | 4       | 0,0287        | 0,0275 | 0,0274 | 0,0211 | 0,0217 | 0,0212 | 0,021  | 0,0202 | 0,0101 | 0,0171 | 0,0216    |
|           | 5       | 0,0102        | 0,0194 | 0,0382 | 0,0108 | 0,01   | 0,0294 | 0,011  | 0,0153 | 0,0109 | 0,0108 | 0,0166    |
| 150 mg/L  | 1       | 0,0078        | 0,0072 | 0,0075 | 0,0091 | 0,0068 | 0,0091 | 0,0068 | 0,0085 | 0,0089 | 0,0093 | 0,0081    |
|           | 2       | 0,0082        | 0,0093 | 0,0102 | 0,0078 | 0,0098 | 0,0069 | 0,0064 | 0,0092 | 0,0061 | 0,0071 | 0,0081    |
|           | 3       | 0,0121        | 0,0126 | 0,0159 | 0,0199 | 0,0325 | 0,0284 | 0,0197 | 0,0174 | 0,0122 | 0,0173 | 0,0188    |
|           | 4       | 0,0185        | 0,0298 | 0,0142 | 0,0187 | 0,0111 | 0,0118 | 0,0113 | 0,0119 | 0,0125 | 0,0102 | 0,015     |
|           | 5       | 0,0153        | 0,0151 | 0,0139 | 0,0162 | 0,0155 | 0,0201 | 0,0141 | 0,0126 | 0,0116 | 0,0156 | 0,015     |



## Lampiran 2. Hasil ANAVA dan DMRT 5%

- Hasil uji analisis varian (ANOVA) dan DMRT 5% pengaruh metionin terhadap persen eksplan berkalus.

| SK       | db | JK       | KT       | Fhit        | F tab       |          |
|----------|----|----------|----------|-------------|-------------|----------|
|          |    |          |          |             | 5%          | 1%       |
| Prlakuan | 6  | 10369,29 | 1728,214 | 5,664618086 | 2,445259395 | 3,527559 |
| Galat    | 28 | 8542,5   | 305,0893 |             |             |          |
| Total    | 34 | 18911,79 |          |             |             |          |

| eksplan_berkalus    |           |   |                         |         |         |
|---------------------|-----------|---|-------------------------|---------|---------|
|                     | Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |
|                     |           |   | 1                       | 2       | 3       |
| Duncan <sup>a</sup> | M0        | 5 | 42,5000                 |         |         |
|                     | M6        | 5 | 42,5000                 |         |         |
|                     | M1        | 5 | 60,0000                 | 60,0000 |         |
|                     | M5        | 5 |                         | 73,0000 | 73,0000 |
|                     | M4        | 5 |                         | 79,0000 | 79,0000 |
|                     | M2        | 5 |                         | 82,0000 | 82,0000 |
|                     | M3        | 5 |                         |         | 87,5000 |
|                     | Sig.      |   | ,145                    | ,078    | ,241    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

- Hasil uji analisis varian (ANOVA) dan DMRT 5% pengaruh metionin terhadap hari muncul fase globular

| SK        | db | JK       | KT       | Fhit     | F tab    |          |
|-----------|----|----------|----------|----------|----------|----------|
|           |    |          |          |          | 5%       | 1%       |
| Perlakuan | 6  | 2022,661 | 337,1101 | 56,18502 | 2,445259 | 3,527559 |
| Galat     | 28 | 168      | 6        |          |          |          |
| Total     | 34 | 2190,661 |          |          |          |          |

## HMG

Duncan<sup>a</sup>

| Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |         |         |
|-----------|---|-------------------------|---------|---------|---------|---------|
|           |   | 1                       | 2       | 3       | 4       | 5       |
| M3        | 5 | 20,2000                 |         |         |         |         |
| M2        | 5 |                         | 25,6000 |         |         |         |
| M4        | 5 |                         |         | 29,7500 |         |         |
| M5        | 5 |                         |         |         | 34,7000 |         |
| M1        | 5 |                         |         |         | 35,5500 |         |
| M0        | 5 |                         |         |         |         | 41,6000 |
| M6        | 5 |                         |         |         |         | 42,6000 |
| Sig.      |   | 1,000                   | 1,000   | 1,000   | ,588    | ,524    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

## 3. Hasil uji analisis varian (ANAVA) dan DMRT 5% pengaruh metionin terhadap berat ekpslan

| sk        | db | JK       | KT       | Fhit     | F tab    |          |
|-----------|----|----------|----------|----------|----------|----------|
|           |    |          |          |          | 5%       | 1%       |
| Perlakuan | 6  | 0,003258 | 0,000543 | 4,204335 | 2,445259 | 3,527559 |
| Galat     | 28 | 0,003617 | 0,000129 |          |          |          |
| Total     | 34 | 0,006875 |          |          |          |          |

## berat\_eksplan

|                     | perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 |       |       |
|---------------------|-----------|---|-------------------------|-------|-------|
|                     |           |   | 1                       | 2     | 3     |
| Duncan <sup>a</sup> | M6        | 5 | ,0130                   |       |       |
|                     | M0        | 5 | ,0136                   |       |       |
|                     | M5        | 5 | ,0236                   | ,0236 |       |
|                     | M1        | 5 | ,0277                   | ,0277 | ,0277 |
|                     | M4        | 5 |                         | ,0326 | ,0326 |
|                     | M2        | 5 |                         | ,0350 | ,0350 |
|                     | M3        | 5 |                         |       | ,0400 |
|                     | Sig.      |   | ,070                    | ,157  | ,129  |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

4. Hasil uji analisis varian (ANAVA) dan DMRT 5% pengaruh metionin terhadap jumlah tunas

| sk       | Db | JK       | KT       | Fhit     | F tab    |             |
|----------|----|----------|----------|----------|----------|-------------|
|          |    |          |          |          | 5%       | 1%          |
| Prlakuan | 6  | 0,990357 | 0,165059 | 47,02102 | 2,445259 | 3,527558989 |
| Galat    | 28 | 0,098289 | 0,00351  |          |          |             |
| Total    | 34 | 1,088646 | 0,032019 |          |          |             |

Hasil analisis DMRT 5% jumlah tunas setelah ditransformasi menggunakan akar kuadrat.

| Jumlah_tunas        |           |   |                         |        |        |        |        |
|---------------------|-----------|---|-------------------------|--------|--------|--------|--------|
|                     | Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 |        |        |        |        |
|                     |           |   | 1                       | 2      | 3      | 4      | 5      |
| Duncan <sup>a</sup> | M0        | 5 | ,7071                   |        |        |        |        |
|                     | M1        | 5 | ,7071                   |        |        |        |        |
|                     | M6        | 5 | ,7071                   |        |        |        |        |
|                     | M5        | 5 |                         | 1,4535 |        |        |        |
|                     | M4        | 5 |                         |        | 2,1816 |        |        |
|                     | M2        | 5 |                         |        |        | 2,6438 |        |
|                     | M3        | 5 |                         |        |        |        | 3,1340 |
|                     | Sig.      |   | 1,000                   | 1,000  | 1,000  | 1,000  | 1,000  |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Hasil DMRT 5% jumlah tunas tanpa ditransformasi

| Jumlah_tunas        |           |   |                         |        |        |        |        |
|---------------------|-----------|---|-------------------------|--------|--------|--------|--------|
|                     | Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 |        |        |        |        |
|                     |           |   | 1                       | 2      | 3      | 4      | 5      |
| Duncan <sup>a</sup> | M0        | 5 | ,0000                   |        |        |        |        |
|                     | M1        | 5 | ,0000                   |        |        |        |        |
|                     | M6        | 5 | ,0000                   |        |        |        |        |
|                     | M5        | 5 |                         | 2,0000 |        |        |        |
|                     | M4        | 5 |                         |        | 4,3000 |        |        |
|                     | M2        | 5 |                         |        |        | 6,5000 |        |
|                     | M3        | 5 |                         |        |        |        | 9,3500 |

|  |      |  |       |       |       |       |       |
|--|------|--|-------|-------|-------|-------|-------|
|  | Sig. |  | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
|--|------|--|-------|-------|-------|-------|-------|

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

##### 5. Hasil uji analisis varian (ANAVA) pengaruh metionin terhadap panjang tunas

| sk       | Db | JK       | KT       | Fhit     | F tab    |          |
|----------|----|----------|----------|----------|----------|----------|
|          |    |          |          |          | 5%       | 1%       |
| Prlakuan | 6  | 1,058371 | 0,176395 | 26,28099 | 2,445259 | 3,527559 |
| Galat    | 28 | 0,187933 | 0,006712 |          |          |          |
| Total    | 34 | 1,246304 |          |          |          |          |

Hasil analisis DMRT 5% panjang tunas setelah ditransformasi menggunakan akar kuadrat

| panjang_tunas       |           |   |                         |       |        |        |
|---------------------|-----------|---|-------------------------|-------|--------|--------|
|                     | perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 |       |        |        |
|                     |           |   | 1                       | 2     | 3      | 4      |
| Duncan <sup>a</sup> | M0        | 5 | ,7071                   |       |        |        |
|                     | M1        | 5 | ,7071                   |       |        |        |
|                     | M6        | 5 | ,7071                   |       |        |        |
|                     | M5        | 5 |                         | ,8481 |        |        |
|                     | M4        | 5 |                         | ,9447 | ,9447  |        |
|                     | M2        | 5 |                         |       | 1,0445 |        |
|                     | M3        | 5 |                         |       |        | 1,1797 |
|                     | Sig.      |   | 1,000                   | ,073  | ,064   | 1,000  |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

##### Hasil analisis DMRT 5% panjang tunas tanpa ditransformasi

| Panjang_tunas       |           |   |                         |   |   |   |
|---------------------|-----------|---|-------------------------|---|---|---|
|                     | Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 |   |   |   |
|                     |           |   | 1                       | 2 | 3 | 4 |
| Duncan <sup>a</sup> | M0        | 5 | ,0000                   |   |   |   |
|                     | M1        | 5 | ,0000                   |   |   |   |
|                     | M6        | 5 | ,0000                   |   |   |   |

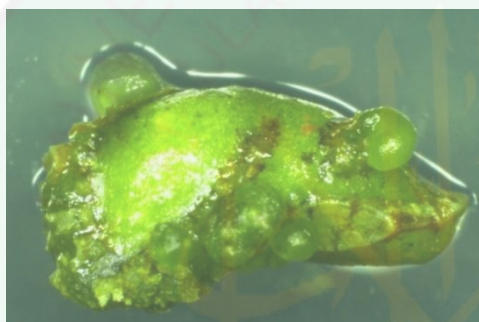
|      |   |       |       |       |       |
|------|---|-------|-------|-------|-------|
| M5   | 5 | ,2360 | ,2360 |       |       |
| M4   | 5 |       | ,3960 | ,3960 |       |
| M2   | 5 |       |       | ,5920 |       |
| M3   | 5 |       |       |       | ,9080 |
| Sig. |   | ,058  | ,157  | ,086  | 1,000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

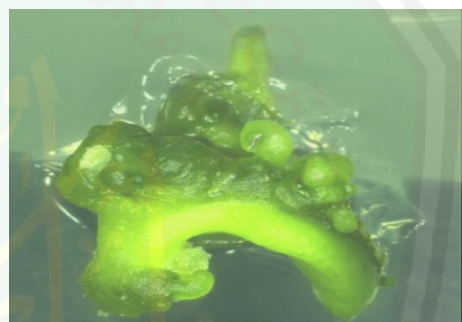
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

### Lampiran 3. Gambar Hasil Pengamatan

#### 1. Gambar hasil pengamatan tunas



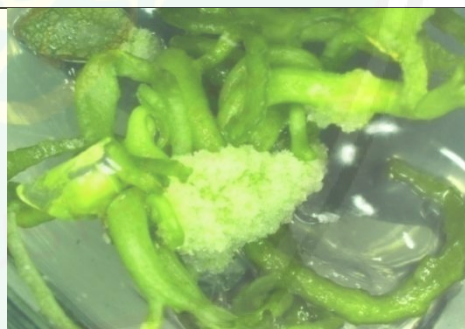
M0 (0 mg/L)



M1 (25 mg/L)

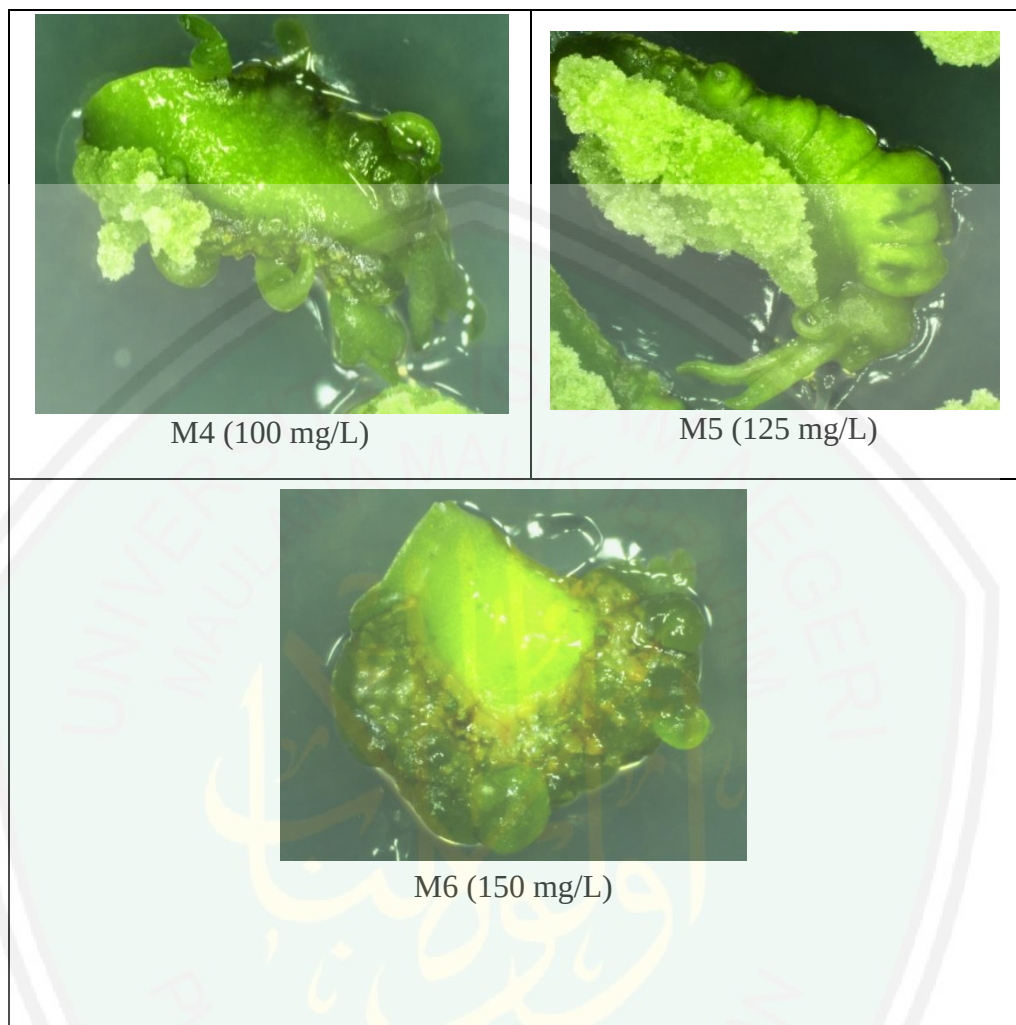


M2 (50 mg/L)



M3 (75 mg/L)





#### Lampiran 4. Perhitungan Larutan Stok Metionin

1. Pembuatan Larutan Stok Metionin 2000 mg/L dalam 100 ml.

$$\text{Larutan stok metionin } 2000 \text{ mg/L} = \frac{2000 \text{ mg}}{1 \text{ l}} = \frac{2000 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{200 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = \frac{0,2 \text{ g}}{100 \text{ ml}}$$

#### Lampiran 5. Perhitungan Pengambilan Metionin dalam Larutan Stok

1. Metionin konsentrasi 25 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$2000 \text{ ppm} \times V1 = 25 \text{ ppm} \times 500 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{25 \text{ ppm} \times 500 \text{ ml}}{2000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 6,25 \text{ ml}$$

2. Metionin konsentrasi 50 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$2000 \text{ ppm} \times V1 = 50 \text{ ppm} \times 500 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{50 \text{ ppm} \times 500 \text{ ml}}{2000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 12,5 \text{ ml}$$

3. Metionin konsentrasi 75 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$2000 \text{ ppm} \times V1 = 75 \text{ ppm} \times 500 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{75 \text{ ppm} \times 500 \text{ ml}}{2000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 18,75 \text{ ml}$$

4. Metionin konsentrasi 100 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$2000 \text{ ppm} \times V1 = 100 \text{ ppm} \times 500 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{100 \text{ ppm} \times 500 \text{ ml}}{2000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 25 \text{ ml}$$

5. Metionin konsentrasi 125 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$2000 \text{ ppm} \times V1 = 125 \text{ ppm} \times 500 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{125 \text{ ppm} \times 500 \text{ ml}}{2000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 31,25 \text{ ml}$$

6. Metionin konsentrasi 150 mg/L

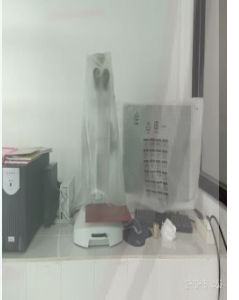
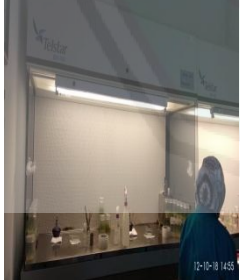
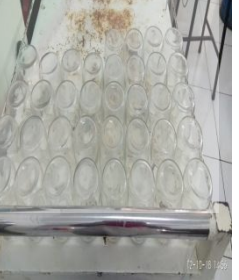
$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$2000 \text{ ppm} \times V1 = 150 \text{ ppm} \times 500 \text{ ml}$$

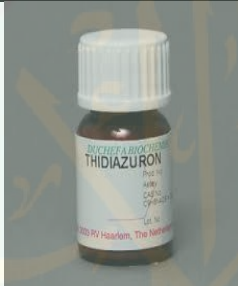
$$V1 = \frac{150 \text{ ppm} \times 500 \text{ ml}}{2000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 37,5 \text{ ml}$$

### Lampiran 6. Foto Alat-alat Penelitian

|                                                                                     |                                                                                      |                                                                                      |                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|    |     |    |    |
| Timbangan Analitik                                                                  | Autoklaf                                                                             | Oven                                                                                 | Kulkas                                                                                |
|  |   |  |  |
| Hot Plate                                                                           | Botol Balsam                                                                         | pH meter                                                                             | Mikroskop                                                                             |
|  |   |  |  |
| LAF                                                                                 | Tutup Botol                                                                          | Cawan Petri                                                                          | Botol Kultur                                                                          |
|  |  |                                                                                      |                                                                                       |
| Plastik, Karet, Kertas Label                                                        | Alat Inseksi                                                                         |                                                                                      |                                                                                       |

### Lampiran 7. Foto Bahan-bahan Penelitian

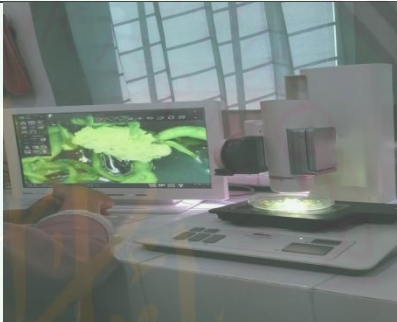
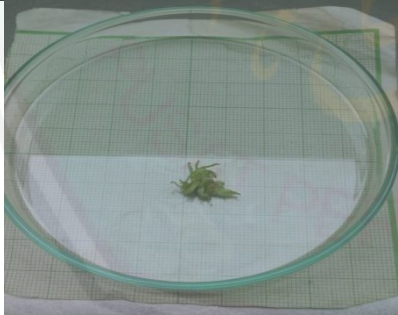
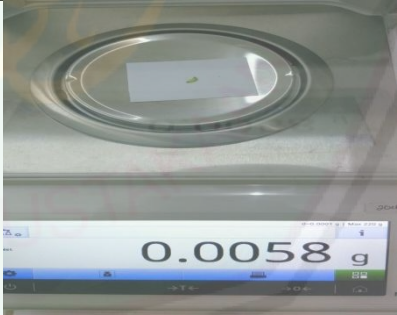
|                                                                                     |                                                                                      |                                                                                     |                                                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|    |     |   |   |
|   |    |  |  |
|  |  |                                                                                     |                                                                                      |

Kotiledon Jeruk

Tisu



## Lampiran 8. Foto Kegiatan Penelitian

|                                                                                                                                |                                                                                                                       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Pengambilan buah jeruk</p>                |  <p>inisiasi</p>                    |
|  <p>Penanaman eksplan ke media perlakuan</p> |  <p>Pengamatan</p>                 |
|  <p>Pengukuran panjang tunas</p>            |  <p>Penimbangan berat planlet</p> |





KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933  
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id>  
Email: [biologi@uinmalang.ac.id](mailto:biologi@uinmalang.ac.id)

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Diah Asri Ariantika  
NIM : 14620027  
Program Studi : Biologi  
Semester : 9 TA. 2018/2019  
Pembimbing : Suyono, M.P  
Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi Metionin Terhadap Organogenesis Somatik Repetitif Jeruk Japhansce Citroen (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) Dengan Teknik Thin Cells Layer (TCL)

| No | Tanggal           | Uraian Materi Konsultasi            | Ttd. Pembimbing |
|----|-------------------|-------------------------------------|-----------------|
| 1  | 15 Maret 2018     | Bab I                               | 1.              |
| 2  | 21 April 2018     | Bab I dan Bab II                    | 2.              |
| 3  | 26 April 2018     | Revisi Bab I dan Bab II             | 3.              |
| 4  | 14 Mei 2018       | Bab III                             | 4.              |
| 5  | 15 Mei 2018       | ACC Proposal Skripsi                | 5.              |
| 6  | 21 September 2018 | Konsultasi Hasil Penelitian         | 6.              |
| 7  | 25 September 2018 | Konsultasi Hasil Analisis           | 7.              |
| 8  | 26 September 2018 | Konsultasi Revisi Hasil Analisis    | 8.              |
| 9  | 24 Oktober 2018   | Konsultasi Bab I, II, III, IV dan V | 9.              |
| 10 | 26 Oktober 2018   | Konsultasi Revisi Bab I dan II      | 10.             |
| 11 | 29 Oktober 2018   | Konsultasi Bab IV                   | 11.             |
| 12 | 2 November 2018   | Konsultasi Revisi Bab IV dan Bab V  | 12.             |
| 13 | 6 November 2018   | ACC Skripsi                         | 13.             |

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi



Romadhoni M. Si., D.Sc  
NIP. 19810921 200901 1 019

Malang, 13 Desember 2018  
Pembimbing,

Suyono, M.P  
NIP. 19710622 200312 1 002



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933  
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id>  
Email: [biologi@uinmalang.ac.id](mailto:biologi@uinmalang.ac.id)

**BUKTI KONSULTASI INTEGRASI ISLAM DAN SAINS**

Nama : Diah Asri Ariantika  
NIM : 14620027  
Program Studi : Biologi  
Semester : 9 TA. 2018/2019  
Pembimbing : M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I  
Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi Metionin Terhadap Organogenesis Somatik Repetitif Jeruk Japhansce Citroen (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) Dengan Teknik Thin Cells Layer (TCL)

| No | Tanggal         | Uraian Materi Konsultasi         | Ttd. Pembimbing |
|----|-----------------|----------------------------------|-----------------|
| 1  | 14 Mei 2018     | Integrasi Bab I, II, dan III     | 1.              |
| 2  | 15 Mei 2018     | Revisi Intergrasi Bab II dan III | 2.              |
| 3  | 15 Mei 2018     | ACC Proposal Skripsi             | 3.              |
| 4  | 1 November 2018 | Integrasi Bab I, II, III dan IV  | 4.              |
| 5  | 4 November 2018 | Revisi Integrasi Bab I, III, IV  | 5.              |
| 6  | 5 November 2018 | ACC Skripsi                      | 6.              |

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi,

Remaidi M. Si, D.Sc  
NIP. 198103012009011019

Malang, 13 Desember 2018  
Pembimbing,

M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I  
NIPT. 20142011409