

**PENGARUH 6-BENZYLADENINE TERHADAP RESPON
PERTUMBUHAN BIJI DELIMA HITAM (*Punica granatum* L.)
MENGUNAKAN METODE PEMOTONGAN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD FARID ANNAS
NIM. 15620088



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**PENGARUH 6-BENZYLADENINE TERHADAP RESPON
PERTUMBUHAN BIJI DELIMA HITAM (*Punica granatum* L.)
MENGUNAKAN METODE PEMOTONGAN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD FARID ANNAS
NIM. 15620088



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**PENGARUH 6-BENZYLADENINE TERHADAP RESPON
PERTUMBUHAN BIJI DELIMA HITAM (*Punica granatum L.*)
MENGUNAKAN METODE PEMOTONGAN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:
MUHAMMAD FARID ANNAS
NIM. 15620088**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

HALAMAN PERSETUJUAN

**PENGARUH 6-BENZYLADENINE TERHADAP RESPON
PERTUMBUHAN BIJI DELIMA HITAM (*Punica granatum L.*)
MENGUNAKAN METODE PEMOTONGAN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD FARID ANNAS
NIM. 15620088

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

tanggal: 18 Desember 2019

Pembimbing I

Pembimbing II



Suyono, M.P
NIP. 19710622 200912 2 002



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

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



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




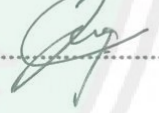
**PENGARUH 6-BENZYLADENINE TERHADAP RESPON
PERTUMBUHAN BIJI DELIMA HITAM (*Punica granatum L.*)
MENGUNAKAN METODE PEMOTONGAN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD FARID ANNAS
NIM. 15620088

telah dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan dinyatakan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh
gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: 26 Desember 2019

Penguji Utama	: Ruri Siti Resmisari, M.Si (.....)	
	: NIDT. 19790123201608012063	
Ketua Penguji	: Didik Wahyudi, M.Si (.....)	
	: NIP. 19860102201801 1 001	
Sekretaris Penguji	: Suyono, M.P (.....)	
	: NIP. 19710622 200912 2 002	
Anggota Penguji	: M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I(.....)	
	: NIPT. 20142011409	

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbi'alamiin. Tidak terkira rasa syukur pada Allah Subhanallahuwata'ala. atas segala nikmat, rahmat, serta karunia-Nya dan Nabi Muhammad Sallahu'alaihi Wassalam yang telah mengantarkan kita menuju zaman Islamiyyah dan kita nantikan syafaat-Nya di yaumul qiyamah. Atas terselesaikannya karya ini saya persembahkan kepada Keluarga Besar Bapak Muksim, Ibu Rojiyah, & Adik Adinniyah N.A, serta Bunda Nur H. terimakasih atas segala Do'a dan motifasinya, maaf ananda belum bisa mewujudkan semua harapan dan keinginan Bapak Ibu. Semoga dengan terselesaikannya karya ini menjadi sebuah awal kesuksesan ananda di dunia dan akhirat. Kemudian, semoga Bapak dan Ibu senantiasa diberikan kesehatan, umur panjang, dan rahmat Allah SWT. aamiin.



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Farid Annas
NIM : 15620088
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Pengaruh *6-Benzyladenine* terhadap Respon Pertumbuhan Biji Delima Hitam (*Punica granatum* L.) menggunakan Metode Pemotongan secara *in vitro*

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, 18 Desember 2018

Yang membuat pernyataan,



Muhammad Farid Annas
NIM. 15620088

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkanankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



Pengaruh 6-Benzyladenine terhadap Respon Pertumbuhan Biji Delima Hitam (*Punica granatum L.*) menggunakan Metode Pemotongan secara in vitro

Muhammad Farid annas, Suyono, dan M. Mukhlis Fahrudin

ABSTRAK

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan BA terhadap respon pertumbuhan biji delima hitam menggunakan metode pemotongan secara in vitro. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak lengkap (RAL). Variabel bebas yang digunakan adalah penambahan BA dengan konsentrasi berbeda (0 ppm; 0,5 ppm; 1 ppm; 1,5 ppm; 2 ppm; 2,5 ppm) dengan metode pemotongan ujung dan pangkal. Sumber eksplan yang digunakan adalah biji delima hitam dan di kultur pada media MS. Parameter yang diamati adalah pertumbuhan kalus (callogenesis) dan respon pertumbuhan organ (kotiledon, hipokotil, akar, dan tunas). Parameter kuantitatif yang diamati adalah pertumbuhan kalus (hari muncul kalus, persentase kalus, dan berat total kalus), persentase pertumbuhan organ (kotiledon, akar, dan tunas), dan hari muncul tunas. Parameter kuantitatif diuji statistik dengan ANAVA 95% jika berbeda nyata maka diuji lanjut (data kuantitatif), jika tidak berbeda nyata maka dibahas secara deskriptif (data kualitatif). Hasil penelitian menunjukkan hasil pertumbuhan kalus terbaik dengan hari muncul kalus terbaik pada perlakuan 1,5 ppm BA dengan waktu 11,31 HST, persentase kalus pada perlakuan 2,5 ppm BA dengan 93,75%, dan berat total kalus terbaik pada perlakuan 1,5 ppm BA dengan 637 mg. Hari muncul tunas terbaik pada perlakuan 2 ppm BA dengan waktu 14,88 HST, persentase tunas rata-rata 75%, persentase kotiledon rata-rata 93,75, persentase hipokotil rata-rata 81,25, dan persentase akar rata-rata 75%. Metode pemotongan ujung biji menghasilkan pertumbuhan kalus, sedangkan pemotongan pangkal biji menghasilkan pertumbuhan tunas, kotiledon, hipokotil, dan akar.

Kata kunci: BA, biji, delima hitam, in vitro, pertumbuhan

Effect of 6-Benzyladenine on the Growth Response of Black Pomegranate Seeds (*Punica granatum L.*) using the Cutting Method *in vitro*

Muhammad Farid annas, Suyono, and M. Mukhlis Fahrudin

ABSTRACT

The research aims to determine the effect of adding BA to the growth response of black pomegranate seeds using *in vitro* cutting methods. The research design used was a completely randomized design (CRD). The independent variable used was the addition of BA with different concentrations (0 ppm; 0.5 ppm; 1 ppm; 1.5 ppm; 2 ppm; 2.5 ppm) with the tip and base cutting method. The source of the explants used was black pomegranate seeds and cultured on MS media. The parameters observed were callus growth (callogenesis) and organ growth response (cotyledon, hypocotyl, roots, and shoots). Quantitative parameters observed were callus growth (callus day, callus percentage, and total callus weight), percentage of organ growth (cotyledons, roots, and shoots), and days of emergence of shoots. Quantitative parameters are tested statistically with ANAVA 95% if significantly different then further tested (quantitative data), if not significantly different then discussed descriptively (qualitative data). The results showed the best callus growth results with the best callus appearing at 1.5 ppm BA with 11.31 HST, the percentage of callus at 2.5 ppm BA with 93.75%, and the best total callus weight at treatment 1, 5 ppm BA with 637 mg. Today the best shoots appeared at 2 ppm BA treatment with a time of 14.88 HST, an average shoot percentage of 75%, an average cotyledon percentage of 93.75, an average hypocotyl percentage of 81.25, and an average root percentage of 75% . The seed tip cutting method produces callus growth, while the seed base cutting results in shoot, cotyledon, hypocotyl, and root growths.

Keywords: *BA, black pomegranate, growth, in vitro, seeds*

تأثير ٦-بنزليادين (BA) على الاستجابة لنمو بذور الرمان الأسود (*Punica granatum L.*) باستخدام طريقة القطع *in vitro*

محمد فريد أنس ، سويون ، و مخلص فخر الدين

الملخص

يهدف البحث الذي أجري إلى تحديد تأثير إضافة البكالوريوس في استجابة نمو بذور الرمان السوداء باستخدام طرق القطع المختبرية. كان تصميم البحث المستخدم تصميمًا عشوائيًا تمامًا (RAL). المتغير المستقل المستخدم كان إضافة BA بتركيزات مختلفة (٠ جزء في المليون ؛ ٠.٥ جزء في المليون ؛ ١ جزء في المليون ؛ ١.٥ جزء في المليون ؛ ٢ جزء في المليون ؛ ٢.٥ جزء في المليون) مع طريقة القطع والقاعدة. وكان مصدر eksplan المستخدمة بذور الرمان السوداء ومثقف على وسائل الإعلام MS. وكانت المعلمات لوحظ نمو الكالس (الكالوجينية) واستجابة نمو الأعضاء (كوتيليدون ، hipokotil ، والجذور ، ويطلق النار). المعلمات الكمية التي لوحظت هي نمو الكالس (يوم الكالس ، نسبة الكالس ، والوزن الكلي للكلس) ، نسبة نمو الأعضاء (النباتات ، الجذور ، البراعم) ، وأيام ظهور البراعم. يتم اختبار المعلمات الكمية إحصائياً مع ANOVA ٩٥٪. إذا كانت مختلفة بشكل ملحوظ ثم مزيد من الاختبارات (البيانات الكمية) ، إن لم يكن مختلفاً بشكل كبير ثم مناقشتها وصفي (البيانات النوعية). أظهرت النتائج أفضل نتائج نمو الكالس مع ظهور أفضل الكالس عند ١.٥ جزء في المليون BA مع HST ١١.٣١ ، ونسبة الكالس عند ٢.٥ جزء في المليون BA مع ٩٣.٧٥٪ ، وأفضل وزن إجمالي للكالس في المعالجة ١ ، ٥ جزء في المليون BA مع ٦٣٧ ملغ. واليوم ، ظهرت أفضل براعم عند علاج 2 BA جزء في المليون في زمن يبلغ ١٤.٨٨ HST ، ونسبة إطلاق نار متوسطة ٧٥٪ ، ونسبة kotiledon متوسطة ٩٣.٧٥ ، ونسبة مئوية منخفضة من hipokotil ٨١.٢٥ ، ونسبة جذر متوسطة ٧٥٪ ، تنتج طريقة تقطيع طرف البذرة نمو الكالس ، في حين ينتج عن تقطيع قاع البذرة نمو نبتة ، كوتيليدون ، hipokotil ، ونمو الجذر.

الكلمات المفتاحية: البكالوريوس ، البذور ، الرمان الأسود ، في المختبر ، النمو

MOTTO

“SEPIRA GEDHENING SENGSARA

YEN TINAMPA AMUNG DADI COBA”

“SEBESAR APAPUN KESENGSARAAN

KETIKA DITERIMA HANYALAH MENJADI COBAAN”



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Puji syukur penulis haturkan kehadiran Allah Subhanallahuwata'ala. yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengaruh 6-Benzyladenine terhadap Respon Pertumbuhan Biji Delima Hitam (*Punica granatum L.*) menggunakan Metode Pemotongan secara *in vitro*”**.

Kemudian, Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada baginda Rasulullah Muhammad Sallahu'alaihi Wassalam yang telah mengantarkan kita menuju zaman Islamiyyah dan kita nantikan syafaat-Nya di yaumul qiyamah.

Selanjutnya, penulish haturkan ucapan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terimakasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. 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. Bapak Romaidi, M.Si., D.Sc, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Bapak Suyono, M.P, sebagai dosen pembimbing Jurusan Biologi yang telah sabar membimbing dan mengarahkan penulis hingga terselesaikannya skripsi ini dengan baik. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat-Nya kepada Beliau dan keluarga. Aammiinn.
5. Bapak M. Mukhlis Fahrudin, M.SI sebagai dosen pembimbing integrase sains dan agama yang telah sabar membimbing dan mengarahkan penulis tentang pandangan sains dari perspektif islam,sehingga terselesaikannya skripsi ini dengan baik. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat-Nya kepada Beliau dan keluarga. Aammiinn.
6. Ibu Ruri Siti Resmisari, M.Si dan Bapak Didik Wahyudi, M.Si sebagai dosen penguji yang telah memberikan saran terbaiknya.
7. Segenap Bapak/Ibu dosen dan Laboran Jurusan Bilogi yang telah membantu dan membimbing penulis dalam penelitian.
8. Keluarga tercinta, Bapak Muksim, Ibu Rojiyah, dan Adik Adinniyah, N.A yang selalu memberikan dukungan dan Do'a.
9. Teman-teman Biologi C dan sobat genetis yang telah berjuang bersama.
10. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Terimakasih

Semoga Allah SWT memberikan balasan. Akhir kata penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya dalam menambah ilmu pengetahuan. Aamiin

Wassalamu'alaikum Wr.Wb

Malang, Desember 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
المخلص	x
MOTTO	xi
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan	5
1.4 Manfaat	5
1.5 Hipotesis.....	5
1.6 Batasan Masalah.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Delima Hitam dalam Perspektif Islam	7
2.2 Deskripsi dan Klasifikasi Delima Hitam (<i>Punica granatum L.</i>).....	12
2.3 Morfologi Biji Delima Hitam	13
2.4 Manfaat dan Kandungan Delima	14
2.5 Kultur <i>in vitro</i>	15
2.6 Hormon Pertumbuhan	16

2.7	6-Benzyl Adenine.....	18
2.8	Pengaruh Pemotongan dan Penambahan Sitokinin Eksogen BA terhadap Respon Pertumbuhan Biji Delima Hitam.....	19
BAB III METODE PENELITIAN		22
3.1	Variabel Penelitian	22
3.2	Rancangan Penelitian	22
3.3	Waktu dan Tempat	23
3.4	Alat dan bahan.....	23
3.5	Prosedur Penelitian.....	23
3.6	Analisis Data	26
3.7	Desain Penelitian.....	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		27
4.1	Pengaruh Penambahan BA terhadap Respon Morfogenesis Biji Delima Hitam Menggunakan Metode Pemotongan Biji.....	27
4.2	Pengaruh Penambahan BA terhadap Respon Pertumbuhan Biji Delima Hitam Menggunakan Metode Pemotongan Ujung Biji.....	28
4.3	Pengaruh Penambahan BA terhadap Respon Pertumbuhan Biji Delima Hitam Menggunakan Metode Pemotongan Pangkal Biji.....	32
4.4	Respon Morfogenesis pertumbuhan Biji Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L.) dalam Perspektif Islam	36
BAB V PENUTUP		41
5.1	Kesimpulan	41
5.2	Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA		42
LAMPIRAN.....		54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Perlakuan penelitian	22
4.2 Respon morfogenesis penambahan BA dengan metode pemotongan biji	27
4.3 Hasil pertumbuhan kalus ujung biji delima hitam	28
4.4 hasil respon pertumbuhan organ pangkal biji delima hitam	32



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tanaman <i>Punica granatum</i> L.....	12
2.2 Morfologi <i>Punica granatum</i> L.....	13
2.3 Biji <i>Punica granatum</i> L.....	14
2.4 Morfologi Biji <i>Punica granatum</i> L.....	14
2.5 Grafik konsentrasi auksin endogen pada setiap organ tanaman.....	18
2.6 Struktur molekul 6-Benzylaminopurine (BAP).....	19
2.7 Interaksi antara konsentrasi auksin dan sitokinin dalam organogenesis.....	20
3.8 Metode pemotongan.....	25
4.9 Perbedaan hasil pertumbuhan kalus ujung biji delima berbagai konsentrasi BA.....	31
4.10 Perbedaan hasil pertumbuhan pangkal biji delima berbagai konsentrasi BA36	



DAFTAR LAMPIRAN

1. Desain Penelitian.....	54
2. Tabel Data Hasil Pengamatan Pertumbuhan Kalus Ujung Biji	55
3. Tabel Data Hasil Pengamatan Pertumbuhan Pangkal Biji.....	55
4. Hasil Analisis Statistika	56
5. Perhitungan Larutan Stok Hormon	61
6. Perhitungan Pengambilan Larutan Stok Hormon	61
7. Alat dan Bahan Penelitian.....	62



DAFTAR SINGKATAN

Simbol / Singkatan	Keterangan
ANAVA	Analisis Varian
Atm	Atmosfer
BA	<i>Benzyl Adenin</i>
cm	Centi meter
HCl	Asam klorida
HSI	Hari setelah inisiasi
HST	Hari setelah tanam
IAA	<i>Indole Acetic Acid</i>
LAF	<i>Laminar Air Flow</i>
mg	Miligram
MS	<i>Murashige-Skoog</i>
P	Pangkal biji
PIN	PINFORMED
ppm	<i>Part per million</i>
U	Ujung biji
UV	Ultra violet
ZPT	Zat pengatur tumbuh
μm	Mikro meter
±	Kurang/lebih
∑	Jumlah
%	Persen

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah SWT. adalah Maha Dzat yang menciptakan berbagai makhluk di bumi. Diantara berbagai ciptaan Allah SWT. salah satunya adalah berbagai jenis tumbuhan. Penciptaan segala jenis tumbuhan memiliki tujuan kemaslahatan untuk kehidupan manusia. Allah SWT. telah menjelaskan tentang berbagai jenis tumbuhan yang bermanfaat di dalam kitab suci Al Qur'an surat Asy- Syuu'ara [26] ayat 7 yaitu:

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 ini berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?”(Q.S Asy-Syuu'ara 26:7)

Tafsir surat Asy- Syuu'ara [26] ayat 7 menjelaskan sesungguhnya Allah SWT. memerintahkan manusia untuk senantiasa mengamati berbagai jenis tumbuhan yang ada di seluruh permukaan bumi. Setiap jenis tumbuhan memiliki manfaat masing-masing. Penjelasan manfaat tersirat dalam kalimat “ زَوْجٍ كَرِيمٍ “. Berdasarkan tanda-tanda tersebut manusia diperintahkan oleh Allah SWT. untuk berfikir. Sehingga dengan berfikir, manusia dapat memperoleh petunjuk dari Allah SWT. untuk menggunakan berbagai manfaat tumbuhan tersebut dalam kehidupan sehari-hari (Ibnu Katsir, 2004).

Salah satu jenis tumbuhan yang diketahui memiliki manfaat adalah delima (Parashar, 2010). Delima digunakan sebagai obat tradisional (Al-Said, *et al.*, 2009; Akbarpour, *et al.*, 2009). Delima mengandung zat yang dapat mencegah penyakit (Melgarejo dan Martinez, 1992; Melgarejo dan Salazar, 2002; Parashar, 2010). Buah delima mengandung antioksidan terbanyak yaitu *punicalagin* yang mampu mengontrol radikal bebas (Wahab, *et al.*, 1998; Gil, *et al.*, 2000).

Delima (*Punica granatum L.*) merupakan tanaman asli Iran (Teixeria,*et al.*, 2013). Perkembangan dan persebaran delima terus meluas hingga ke wilayah Eropa dan Asia Tengah, Timur, Tenggara hingga sampai di Indonesia (Shahr,

1997; Shaygannia dan Bahmani,2016). Delima merupakan spesies dari familia Lythraceae (APG II, 2003).

Delima hitam (*Punica granatum* L.) merupakan salah satu varietas dari delima (Teixeria,*et al.*, 2013). Delima hitam berhabitus semak hingga perdu (Shaygannia dan Bahmani,2016; Watson dan Dallwitz, 1992). Buah delima hitam termasuk jenis buah *balusta* (Zamani, 1990; Teixeira,*et al.*, 2013). Biji delima hitam berbentuk lonjong (*oval*), bertekstur keras dengan ukuran 0,5-1 cm. Biji delima hitam memiliki kulit biji (*spermodermis*) yang keras dan tebal. *Spermodermis* diselubungi oleh salut biji (*arillus*) (Lawrence, 1951; Purseglove, 1968; Dahlgren dan Thorne, 1984; Watson dan Dallwitz, 1992).

Permintaan pasar buah delima hitam semakin meningkat. Produk buah delima hitam yang berkualitas menjadi minat utama, sehingga diperlukan penelitian tentang perbanyakan delima hitam (Martinez, *et al.*, 2006). Perbanyakan delima hitam menggunakan biji secara konvensional (*in vivo*) membutuhkan waktu yang lama dikarenakan delima hitam memiliki kulit biji (*spermodermis*) yang keras, ukuran biji yang tidak seragam, dan embrio yang terkadang tidak ada (Aini, 2018). Selain itu, delima hitam memiliki masalah pertumbuhan sel (*mikropropagation*) dalam perbanyakan kultur *in vitro* dikarenakan eksplan mudah mengeluarkan fenol sehingga mengakibatkan pencoklatan (*browning*) dan kontaminasi mikroba (Naik dan Chand, 2003; Kanwar, *et al.*, 2010). Namun, dari kecepatan pertumbuhan dan perkembangan sel, kultur *in vitro* memiliki keunggulan pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan budidaya secara *in vivo* (Dodds, *et al.*, 1993). Sehingga, Salah satu solusi dalam budidaya delima hitam adalah dibutuhkan suatu inovasi pengembangan metode kultur *in vitro* biji delima hitam.

Kultur *in vitro* merupakan suatu teknik atau metode isolasi bagian tubuh tumbuhan (eksplan) di dalam media tumbuh yang steril sehingga eksplan dapat melakukan aktifitas metabolisme, regenerasi dan diferensiasi sel secara optimal (Dodds, *et al.*, 1993). Eksplan yang digunakan dalam kultur *in vitro* delima hitam antara lain berupa daun, kotiledon, hipokotil, nodus, tunas, dan biji (Chaugule, *et al.*, 2005). Biji delima hitam sering digunakan sebagai sumber eksplan karena dianggap sebagai organ steril dan banyak mengandung jaringan meristem (Kamil,

1979; Abidin, 1983; Osman, *et al.*, 2016). Namun, penggunaan bagian biji delima hitam sebagai sumber eksplan seringkali dianggap sama (homogen), padahal dari bagian biji berbeda dapat menyebabkan respon pertumbuhan yang berbeda (AOSA, 2000).

Pertumbuhan dalam kultur *in vitro* dapat diarahkan dengan memanfaatkan hormon pertumbuhan (Audus, 1959 ; Davies, 2004). Hormon pertumbuhan (*plant hormone*) merupakan zat organik yang disintesis di dalam tanaman, dengan kadar minimal mampu mempengaruhi proses fisiologis tanaman. Hormon pertumbuhan disebut juga sebagai hormon endogen. Selain itu, terdapat pula hormon eksogen, yaitu hormon yang berasal dari luar tumbuhan dan disebut sebagai zat pengatur tumbuh (ZPT). Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan hormon eksogen pada tanaman yang digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan. Penambahan senyawa zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi tertentu mampu mempengaruhi pertumbuhan suatu tanaman kultur *in vitro* (Abidin, 1983).

Hormon pertumbuhan terbagi menjadi beberapa jenis, antar lain golongan auksin, sitokinin, strigolakton, bassinosteroid, giberelin, asam absisat, etilen, asam salisilat, dan asam jasmonik (Sezgin, dan Mustafa, 2018). Auksin merupakan senyawa yang memiliki struktur kimia cincin indol (*indole ring*). Auksin berfungsi untuk mendukung perpanjangan sel (*cell elongation*) (Abidin, 1983). Sitokinin merupakan jenis zat pengatur tumbuh yang berperan dalam pemicu pembelahan sel (*cytokinesis*). Istilah sitokinin berasal dari kelompok senyawa 6-substitusi *aminopurine* (Sakakibara, 2010).

Respon pertumbuhan jaringan tanaman dalam kultur *in vitro* normal membutuhkan penambahan zat pengatur tumbuh dalam media dasar (Centeno, *et al.*, 1997). Kehadiran auksin dan sitokinin diperlukan secara khusus dalam pertumbuhan untuk organogenesis tidak langsung (*indirect organogenesis*), atau pembentukan kalus (*callogenesis*) (Krikorian, 1995). Konsentrasi antara auksin dan sitokinin yang berbeda akan menghasilkan respon pertumbuhan tertentu. Diduga, didalam biji delima hitam terdapat konsentrasi auksin endogen yang berbeda (Kramer dan Ethan, 2015). Sehingga perlu dilakukan penelitian dengan penambahan sitokinin eksogen untuk mengetahui reaksi hormon endogen dalam merespon pertumbuhan biji delima hitam.

Penambahan sitokinin eksogen diperlukan karena selain auksin, sitokinin berperan penting dalam pertumbuhan tanaman (Gaspar, 1996). Salah satu jenis sitokinin yang telah digunakan dalam kultur *in vitro* adalah BA (*6-Benzyl adenine*). Zat pengatur tumbuh BA berfungsi untuk merangsang sel eksplan dalam proses penyerapan hormon, distribusi, dan metabolisme. Keunggulan BA adalah mampu mempengaruhi peningkatan konsentrasi hormon sitokinin bebas di dalam jaringan eksplan (Auer, *et al.*, 1992).

Penelitian kultur *in vitro* biji delima hitam perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemotongan bagian biji berbeda terhadap respon pertumbuhan. Beberapa biji delima hitam terdapat bagian yang memiliki embrio dan/hanya kotiledon saja di dalamnya (Aini, 2018). Penelitian tentang kultur *in vitro* menggunakan eksplan biji delima hitam dengan penambahan zat pengatur tumbuh BA pernah dilakukan pada dua penelitian berbeda sebelumnya. Penambahan zat pengatur tumbuh BA konsentrasi 0,5-2,5 ppm pada pemotongan bagian ujung biji delima hitam mampu menghasilkan induksi kalus dengan persentase hingga 59% (Rohmah, 2018). Sedangkan, penambahan zat pengatur tumbuh BA konsentrasi 0,5-2,5 ppm pada pemotongan pangkal biji delima hitam mampu menghasilkan pertumbuhan tunas dengan jumlah antara 2-6 tunas (Risqi, 2019).

Berdasarkan hasil dari kedua penelitian tentang delima hitam sebelumnya menunjukkan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh BA yang sama pada pemotongan bagian biji berbeda dapat menghasilkan respon pertumbuhan yang berbeda. Sehingga, diperlukan suatu penelitian lanjut untuk mengetahui pengaruh pemotongan dua bagian biji dan penambahan BA (*6-Benzyladenine*) terhadap respon pertumbuhan delima hitam (*Punica granatum L.*) secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian yang dilakukan antara lain:

1. Bagaimana pengaruh BA terhadap respon morfogenesis biji delima hitam (*Punica granatum L.*) menggunakan metode pemotongan secara *in vitro* ?
2. Bagaimana pengaruh BA terhadap respon pertumbuhan biji delima hitam (*Punica granatum L.*) menggunakan metode pemotongan ujung secara *in vitro* ?

3. Bagaimana pengaruh BA terhadap respon pertumbuhan biji delima hitam (*Punica granatum L.*) menggunakan metode pemotongan pangkal secara *in vitro* ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian yang dilakukan antara lain:

1. Mengetahui pengaruh BA terhadap respon morfogenesis biji delima hitam (*Punica granatum L.*) menggunakan metode pemotongan secara *in vitro*.
2. Mengetahui pengaruh BA terhadap respon pertumbuhan biji delima hitam (*Punica granatum L.*) menggunakan metode pemotongan ujung secara *in vitro*.
3. Mengetahui pengaruh BA terhadap respon pertumbuhan biji delima hitam (*Punica granatum L.*) menggunakan metode pemotongan pangkal secara *in vitro*.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian yang dilakukan antara lain:

1. Didapatkan informasi dalam pemilihan dua pemotongan bagian eksplan biji delima hitam sesuai tujuan respon pertumbuhan dalam kultur *in vitro*.
2. Memberikan informasi bahwa setiap bagian pemotongan biji memiliki respon pertumbuhan yang berbeda terhadap setiap perlakuan.
3. Mengetahui pengaruh pemotongan dalam mendiskripsikan auksin endogen di dalam biji delima hitam.

1.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian yang dilakukan antara lain:

1. Ada pengaruh BA terhadap respon morfogenesis biji delima hitam (*Punica granatum L.*) menggunakan metode pemotongan secara *in vitro*.
2. Ada pengaruh BA terhadap respon pertumbuhan biji delima hitam (*Punica granatum L.*) menggunakan metode pemotongan ujung secara *in vitro*.
3. Ada pengaruh BA terhadap respon pertumbuhan biji delima hitam (*Punica granatum L.*) menggunakan metode pemotongan pangkal secara *in vitro*.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah daripada penelitian yang dilakukan antara lain:

1. Tanaman Delima hitam diperoleh dari daerah Malang, Jawa Timur.
2. Eksplan yang digunakan adalah biji delima hitam dari buah usia muda.
3. Media kultur yang digunakan adalah media *Murashige and Skoog* (MS).
4. Pemotongan yang dilakukan adalah bagian ujung dan pangkal dari bagian biji delima hitam dengan ukuran masing-masing ± 3 mm.
5. Zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan adalah sitokinin BA (*6-Benzyl adenine*) dengan konsentrasi 0 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm, dan 2,5 ppm.
6. Parameter yang diamati adalah pertumbuhan kalus (*callogenesis*) dan respon pertumbuhan organ (kotiledon, hipokotil, akar, dan tunas).
7. Parameter kuantitatif yang diamati adalah pertumbuhan kalus (hari muncul kalus, persentase kalus, dan berat total kalus), persentase pertumbuhan organ (kotiledon, akar, dan tunas), dan hari muncul tunas.
8. Parameter kuantitatif diuji statistik dengan ANAVA 95% jika berbeda nyata maka diuji lanjut (data kuantitatif), jika tidak berbeda nyata maka dibahas secara deskriptif (data kualitatif).

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Delima Hitam dalam Perspektif Islam

Segala ciptaan Allah SWT. memiliki tujuan untuk kemaslahatan kehidupan manusia. Manfaat ciptaan Allah SWT. tersebut diturunkan ke dunia untuk melengkapai ujian yang juga Allah SWT. ciptakan. Contoh dari ciptaan Allah SWT. yang saling melengkapi adalah adanya penyakit dan obatnya.

Rasulullah Muhammad Shallahu ‘alaihi wassalam bersabda;

أَنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً , عَلِمَهُ مَنْ عَلِمَهُ وَجَهَلَهُ مَنْ جَهَلَهُ

Artinya : “*Sesungguhnya Allah SWT tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang-orang yang bisa mengetahui dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya*” (H.R. Ahmad, Ibnu Majjah, dan Al Hakim)

Hadits yang diriwayatkan oleh Imam Ahmad, Ibnu Majjah, dan Al Hakim diatas memberikan penjelasan sesungguhnya setiap penyakit terdapat obatnya. Namun, tidak semua orang mengetahui darimana sumber obat-obat tersebut berasal. Sehingga, sebagai umat *ulul albab* manusia haruslah menggunakan akal dan pikirannya untuk mempelajari berbagai sumber obat-obatan. Sesungguhnya salah satu sumber obat yang berhasil diketahui terdapat pada tumbuhan. Ketika zaman sahabat, obat-obatan yang berasal dari tumbuhan telah berkembang. Perkembangan tersebut mengantarkan umat Islam pada masa kejayaannya berupa eksistensi ilmu farmasi (*Syadanah*) (Sudewi, 2017).

Hadits Ahmad, Ibnu Majjah, dan Al Hakim juga berkaitan dengan perkembangan ilmu pengobatan. Ilmu pengobatan telah ada semenjak para cendekiawan muslim seperti Ar Razy, Al Baytar, Ibnu Sina, Jabir Ibn Hayyan, Al Zahrawi, Sabur Ibnu Sahl, Al Biruni, Al Ghafiqi, Ibnu Zuhr, Al Kindi, Ibnu Thufayl, Ibnu Masawayh, Ibnu Rusyd, dan At Tabari mengembangkan ilmu pengobatan modern (Sudewi dan Sri, 2017). Beberapa penemuan mereka berhasil mengetahui bahwa tumbuhan mengandung senyawa yang mampu mengobati beberapa penyakit. Perkembangan obat-obatan modern menjelaskan bahwa

tanaman memiliki senyawa yang bermanfaat. Salah satunya adalah kandungan senyawa metabolit sekunder sebagai sumber pengobatan (Parashar, 2010). Salah satu sumber pengobatan yang memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder adalah delima (Melgarejo, 2000).

Buah delima telah dibudidayakan di Iran sejak 4000 dan 3000 SM. Buah delima merupakan salah satu buah tertua yang dijelaskan didalam Al kitab Injil dan Al Qur'an (Teixeria,2013). Tumbuhan delima dijelaskan di dalam Al Qur'an Surat Al-An'am [06] ayat 99 :

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ قِنَوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya : “dan Dialah yang menurunkan air 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 korma mengurai 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-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.” (Q.S Al-An'am [06] : 99)

Allah SWT. telah memerintahkan semua manusia untuk senantiasa memperhatikan segala ciptaan-Nya dan juga senantiasa berdzikir tentang segala keagungan-Nya (Tafsir al-Maragi,1993). Perkembangan ilmu *sains* mengantarkan pada pengetahuan bahwa sesungguhnya Allah SWT. telah memberikan petunjuk awal sebuah teori keilmuan *sains* yang diisyaratkan di dalam ayat suci Al-Qur'an. Petunjuk untuk pembelajaran ilmu *sains* terdapat pada surat Ali Imran [03] ayat 191 yaitu:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ 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 tiadakah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia Maha Suci Engkau, maka peliharalah Kami dari siksa neraka” (Q.S Ali Imran [03] : 191)

Penjabaran surat Ali Imran [03] ayat 191 menjelaskan sebuah teori keilmuan *sains* yang mendasari ilmu biologi modern. Makna ayat tersebut membawa kepada sebuah teori yaitu struktur mengikuti fungsi, karena setiap struktur yang ada pasti memiliki fungsi masing-masing (Budi, 2017). Salah satu contoh makhluk yang dimaksudkan adalah tumbuhan. Tumbuhan memiliki berbagai macam manfaat dari organ-organ yang dimilikinya seperti daun, batang, akar, buah, dan biji (Jurenka, *et al.*, 2008; Dipak, *et al.*, 2012). Manfaat tersebut terus dikembangkan dan dipelajari dari waktu-kewaktu.

Firman Allah SWT. dalam Surat Al An’am [06] ayat 95:

﴿ إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَىٰ ۗ يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَمُخْرِجُ الْمَيِّتِ مِنَ الْحَيِّ ۗ ذَٰلِكُمْ اللَّهُ فَانَّىٰ تُؤْفَكُونَ ۝١٥﴾

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 memilili sifat-sifat) demikian ialah Allah, maka mengapa kamu masih berpaling?” (Q.S. Al An’am [06] : 95)

Berdasarkan surat Al An’am [06] ayat 95 tersebut, dijelaskan bahwa Allah SWT. yang telah menumbuhkan segala jenis tumbuh-tumbuhan. Selain itu, Allah SWT. mampu menumbuhkan berbagai makhluk hidup dari makhluk yang mati, begitupun sebaliknya (Tafsir Ibnu Katsir, 2007). Ayat tersebut menjadi inspirasi untuk melakukan suatu budidaya tanaman melalui teknik kultur jaringan (*in vitro*). Dengan adanya kultur *in vitro* perkembangan ilmu *sains* menuntun kepada penelitian dari suatu sel tanaman. Diketahui bahwa sel tanaman mampu berkembang menjadi organ lain jika mendapatkan perlakuan tertentu (Street,1972). Hal tersebut tentunya menjadi prospek dalam perkembangan pemanfaatan sel tumbuhan melalui teknik kultur *in vitro*. Berdasarkan penjelasan tersebut tentunya diketahui bahwa setiap bagian tumbuhan terdapat keagungan

dari ciptaan Allah SWT.. Kitab suci Al Qur'an dalam surat Al Qomar [54] ayat 49 menjelaskan:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya :“*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.*”
(Q.S Al Qomar [54]: 49)

Surat Al Qomar [54] ayat 49 tersebut menjelaskan bahwa segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT. pasti sesuai menurut ukurannya masing-masing (Tafsir al-Misbah, 2002). Ukuran yang Allah SWT. tentukan tidaklah kurang ataupun lebih. Ukuran tersebut menjadi petunjuk dalam kultur *in vitro* bahwa pertumbuhan sel menjadi berbagai organ diakibatkan karena adanya perbedaan konsentrasi hormon pertumbuhan (Abidin, 1983). Perbedaan tersebutlah yang memberikan umat *ulul albab* petunjuk untuk senantiasa berfikir dan meneliti ukuran (konsentrasi) optimal dalam pertumbuhan kultur *in vitro*. Sehingga, dengan mengetahui ukuran optimal hormon pertumbuhan yang dibutuhkan, budidaya tanaman dapat dilakukan dengan baik dan efisien.

Penelitian tentang pengembangan budidaya delima hitam perlu dilakukan. Delima hitam dapat memberikan manfaat yang sangat besar untuk kehidupan manusia. Selain itu, melalui kultur *in vitro*, kelestarian tanaman delima hitam dapat dijaga sehingga tidak mengganggu keseimbangan suatu ekosistem. Hal tersebut diperintahkan oleh Allah SWT. kepada manusia sebagai *khalifah* di bumi yaitu dalam kitab suci Al Qur'an surat Al Baqarah [01] ayat 30 yaitu:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً ۗ قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَن
يُفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَاءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ ۗ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا
لَا تَعْلَمُونَ ﴿٣٠﴾

Artinya: “*Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para malaikat;”
Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang khalifah dimuka bumi.*”*Mereka berkata;”Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal Kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan menyucikan Engkau?”* Tuhan berfirman;”*Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak Kamu ketahui*”. (Q.S. Al Baqarah [01]:30)

Manusia diciptakan sebagai *khalifah* di muka bumi. *Khalifah* berarti pengganti, dalam artian manusia merupakan pengganti Allah SWT. yang diberikan wewenang untuk melaksanakan segala perintah-Nya di muka bumi. Sebagai seorang *khalifah* manusia diberikan ilmu kemampuan untuk memanfaatkan, menjaga, dan mempelajari segala ciptaan Allah di muka bumi (Al-Qurtubi, 2009). Menurut tafsir Al Mishbah menjelaskan fungsi *khalifah* adalah menegakkan kehendak Allah SWT. dan menerapkan ketetapan-Nya sebagai ujian dan tugas dari Allah untuk manusia di bumi (Tafsir al-Misbah, 2002).

Manusia sebagai *khalifah* bertugas untuk menjaga keseimbangan ekosistem di bumi. Hal tersebut dikarenakan Allah SWT. bersifat الرَّحْمَنُ dan الرَّحِيمُ yang merupakan perwujudan kasih sayang yang sangat besar terhadap setiap makhluknya. Semua ciptaan-Nya senantiasa selalu dijaga agar tidak rusak. Dalam pemanfaatan tanaman delima hitam, tentunya diperlukan pula suatu upaya dalam menjaga keseimbangan populasi dan kelestarian tanaman delima hitam tersebut. Sehingga tugas inilah yang harus ditegakkan oleh manusia sebagai *khalifah fil'ardh* (Tafsir al-Misbah, 2002).

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَوَاتٍ طِبَاقًا ۗ مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفْوُتٍ ۗ فَأَرْجِعِ
الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ﴿٣﴾

Artinya: “Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis, kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang?” (Q.S Al Mulk [67] :3)

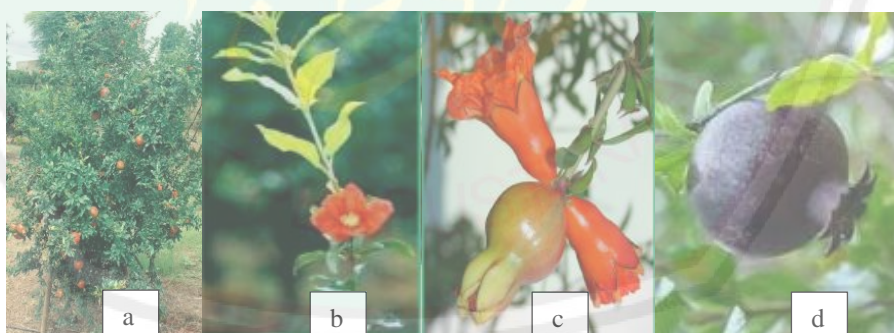
Surat Al Mulk Al Mulk [67] ayat 3 tersebut Allah SWT. mengingatkan bahwa manusia diperbolehkan untuk mengambil manfaat dari ciptaan Allah SWT. seperti tumbuhan, namun manusia juga harus memperhatikan keseimbangan ciptaan Allah SWT. yang lain. Sehingga, manusia senantiasa mengingat untuk tidak berlebihan dalam mengeksplorasi tanaman, khususnya Delima hitam. Fitrah sebagai *khalifah* inilah yang mengantarkan manusia untuk lebih bijaksana dalam mempelajari delima hitam. Perkembangan *sains* mengarahkan pemanfaatan teori diferensiasi sel dengan menggunakan metode kultur *in vitro* untuk budidaya tanaman delima hitam yang lebih efektif, ramah lingkungan, serta konservatif.

2.2 Deskripsi dan Klasifikasi Delima Hitam (*Punica granatum L.*)

Delima hitam berhabitus semak hingga perdu dengan tinggi 1,5-5m (Gambar 2.1a). Delima hitam memiliki akar tunggang. Batang delima hitam berkayu, berwarna coklat, memiliki banyak cabang yang tidak beraturan dan berduri, dengan sel-sel sekretori tersebar di korteks dan empulur (Watson dan Dallwitz, 1992; Shaygannia dan Bahmani, 2016).

Delima hitam memiliki daun tipe tunggal (*folia simplex*), tata letak daun (*phyllotaxis*) berselang berhadapan (*folia opposita*). Daun delima hitam berbentuk memanjang (*oblongus*), ujung tumpul (*obtusus*), tepi rata (*integer*), pangkal runcing (*acutus*). Pertulangan daun menyirip (*pinnenervis*), tekstur perkamen (*perkamenteus*), permukaan mengkilap (*nitidus*), dan berwarna hijau muda hingga tua (Tjotrosoepomo, 1985; Krismawati, 2007; Teixeira, *et al.*, 20013).

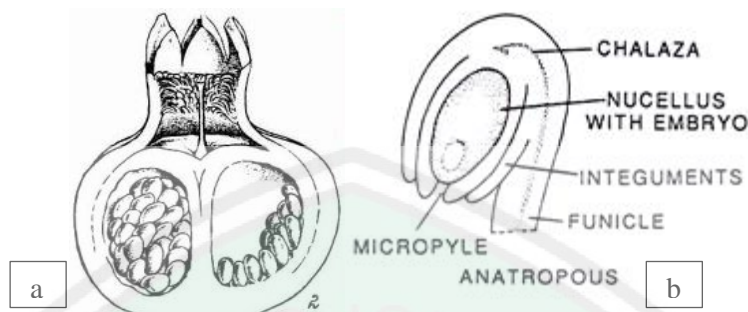
Delima hitam memiliki bunga berjumlah 1-5 buah, salah satunya terletak di terminal dan sisanya di lateral. Bunga yang terdiri dari 5-8 mahkota (*corolla*) dan 5-8 kelopak (*calyx*). Bunga berwarna merah dan berkelamin ganda (*hermafrodite*) (Gambar 2.1b). Setiap bunga memiliki 1 putik dan banyak stamen. Buah berwarna merah muda sampai ungu tua (Gambar 2.1d). Letak plasenta di aksilar atau parietal. Jumlah *ovules* 20-50 per *locule*. Integumen luar bergantung pada mikropil (*microphylle*) (Zamani, 1990).



Gambar 2. 1 Tanaman *Punica granatum L.* : a. Pohon, b. Bunga, c. Bunga yang terfertilisasi, d. Buah matang (Rana, *et al.*, 2010)

Buah delima hitam termasuk jenis buah *balusta* yaitu buah yang berkembang dari multikarpel, dengan letak ovarium menumpang (*superus*) atau tenggelam (*inferus*) (Nath dan Randhawa, 1959) dan letak bakal biji anatropus (Lawrence, 1951; Watson dan Dallwitz, 1992) (Gambar 2.2b). Buah dibagi menjadi perikarp, mesokarp, dan endokarp (Morton, 1987) (Gambar 2.2a). Di dalam buah terdapat

pseudocarpel yang di dalamnya terdapat biji yang tertanam pada tembuni (*placenta*). Diameter buah antara 5-20 cm dengan berat 200-800 g (Tjitrosoepomo, 1985; Zamani, 1990; Watson dan Dallwitz, 1992).



Gambar 2.2 Morfologi *Punica granatum* L. : a. Buah, b. Bakal biji (Watson dan Dallwitz, 1992)

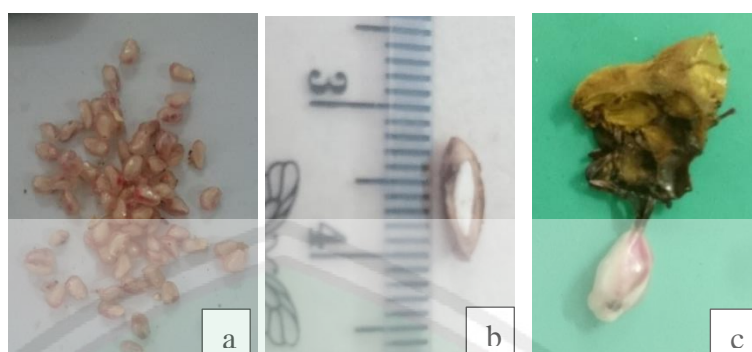
Klasifikasi delima hitam (*Punica granatum*) menurut APG II (2003): Kingdom : Plantae, : Divisio: Magnoliophyta, Classis: Magnoliopsida, Ordo: Mrytales, Familia: Lythraceae, Genus: Punica, dan Species: *Punica granatum* L. .

2.3 Morfologi Biji Delima Hitam

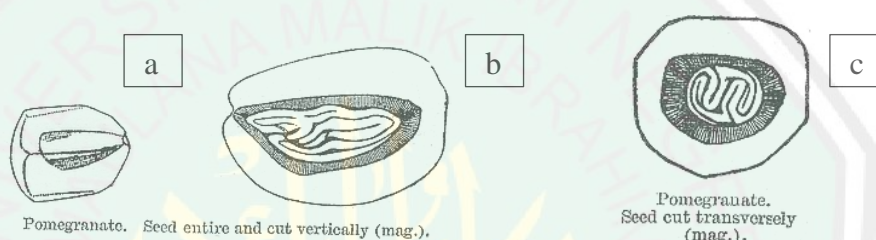
Biji delima hitam berbentuk lonjong (*oval*), bertekstur keras, ukuran kecil, berwarna coklat muda dengan ukuran 0,5-1 cm (Gambar 2.3b). Biji delima hitam dalam satu buah berkisar ± 300 biji. Biji memiliki tiga bagian utama yaitu calon individu (*embrio*), endosperma (*cotyledone*) dan kulit biji (*seed coat*). *Embrio* adalah organisme multiseluler muda sebelum muncul dari biji. Ukuran embrio delima hitam antara 1062,03- 2085,33 μ m dengan bentuk jaringan memanjang berlapis membentuk kumparan (Aini, 2018) (Gambar 2.4). Endosperma adalah sumber nutrisi berupa pati sebagai cadangan energi *embrio*. Embrio terdiri dari calon daun (*plumula*), calon batang (*caulicula*), dan calon batang (*radicula*). Kotiledon berjumlah 2 ukuran besar dan tergulung secara spiral (Tjitrosoepomo, 1985).

Biji delima hitam memiliki kulit biji (*spermodermis*) yang keras dan tebal. *Spermodermis* diselubungi oleh salut biji (*arillus*) berwarna putih (Gambar 2.3a). *Arillus* berasal dari tali pusar (*funiculus*) yang ikut tumbuh. Delima hitam memiliki letak *funiculus* dan tembuni (*placenta*) serta liang biji (*microphyle*) yang berlainan dengan letak pusar biji (*hilus*). Biji menempel pada plasenta tebal

seperti spons dan tidak menempel pada sekat (Lawrence, 1951; Purseglove, 1968; Dahlgren dan Thorne,1984; Watson dan Dallwitz,1992) (Gambar 2.3c).



Gambar 2.3 Biji *Punica granatum* L. : a. Biji dengan arillus, b. Ukuran biji, c. Biji pada placenta (Dokumentasi pribadi, 2019)



Gambar 2.4 Morfologi Biji *Punica granatum* L. : a. Tanpa pemotongan, b. Pemotongan membujur, c. Pemotongan melintang (Watson dan Dallwitz, 1992)

2.4 Manfaat dan Kandungan Delima

Bunga, daun, kulit tunas, akar muda, dan buah delima digunakan sebagai obat tradisional (Poyrazoglu *et al.*,2002). Buah delima bermanfaat sebagai antioksidan (Elliot, 1999; Jafri, *et al.*, 2000), obat anti-inflamasi, antibakteri (Amin, 1991; Lansky *et al.*, 1997), sakit jantung, menghentikan gusi berdarah (Al-Said, *et al.*, 2009; Mercola, 2015), disentri, diare, wasir, radang pankreas dan penyakit empedu (Lansky *et al.*, 1997) Buah delima mengandung antioksidan kuat yaitu *punicalagin* yang mampu mengontrol radikal bebas (Wahab, *et al.*, 1998; Gil, *et al.*, 2000). Minyak delima memiliki efek menghambat kanker payudara (Wahab, *et al.*, 1998; Chaudhuri dan Bhattacharjee, 1999; Changjiang *et al.*, 2003) dan kulit (Schubert, *et al.*, 1999; Aviram, *et al.*, 2000).

Minyak delima mengandung senyawa fitoestrogenik dan steroid (Melgarejo, dan Arte, 2000; Mercola, 2015; Shaygannia dan Bahmani,2016). Buahnya mengandung senyawa fenolik (Salah,*et al.*, 2002; Singh, *et al.*, 2002) , flavonoid

(Jogn, *et al.*, 2003), alkaloid (Aviram *et al.*, 2000; Gil dan Tomas, 2000), dan antosianin (Ozkan, 2002). Daun delima mengandung *punicalin* dan *punicafolin* , bunga mengandung triterpenoid, asam galik, dan akar mengandung alkaloid piperidin ellagitanin (Jurenka, 2008; Dipak, *et al.*, 2012).

2.5 Kultur *in vitro*

Kultur jaringan atau kultur *in vitro* merupakan teknik atau metode isolasi bagian tubuh tumbuhan (eksplan) di dalam media tumbuh yang steril sehingga eksplan dapat melakukan aktifitas metabolisme, regenerasi dan diferensiasi optimal menjadi tanaman sempurna. Eksplan yang digunakan bahan kultur dapat berupa kalus, sel, dan protoplasma. Selain itu, organ yang dapat digunakan antara lain tunas (pucuk), bunga, daun muda, embrio muda, hipokotil, dan akar. Eksplan yang baik adalah eksplan yang mengandung jaringan meristem atau jaringan muda yang aktif tumbuh pada fase awal pertumbuhan (Dodds, *et al.*, 1993).

Dasar teknik kultur *in vitro* adalah teori *totipotency* (*total genetic potential*), yaitu kemampuan setiap sel yang berpotensi membawa komposisi materi genetik yang diturunkan dari tanaman induk keanakan, atau kemampuan tumbuh menjadi tanaman lengkap pada media yang mendukung (Campbell, *et al.*, 2002; Efferth, 2019). Perbanyak tanaman melalui teknik *in vitro* dapat menghasilkan anakan yang identik dengan induk atau bisa juga anakan yang memiliki sifat baru (berbeda dengan induk). Jika eksplan yang diisolasi berasal dari bagian vegetatif maka sifat anakan akan identik dengan induk. Namun jika eksplan berasal dari bagian generatif akan memiliki sifat anakan berbeda dengan induk (Abidin, 1983; Dodds, *et al.*, 1993; Chaugule, *et al.*, 2005).

Keberhasilan kultur *in vitro* dipengaruhi oleh berbagai faktor. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap keberhasilan suatu kultur seperti proses sterilisasi, media nutrisi, sumber eksplan, pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT), unsur hara makro dan mikro, sumber karbon (gula), dan vitamin. Respon pertumbuhan eksplan pada kultur *in vitro* juga tergantung pada jenis spesies tanaman yang digunakan (George dan Sherington, 1984).

Media nutrisi yang umumnya digunakan adalah media *Murashige and Skoog* (MS). Media MS mengandung komposisi nutrisi hara makro, mikro, vitamin, zat besi dan sukrosa yang cukup lengkap untuk pertumbuhan suatu eksplan.

Kandungan nitrogen media MS lebih tinggi dibandingkan media lain dikarenakan kandungan senyawa organiknya yang tinggi. Pemberian gula pada media MS dapat mempengaruhi pembelahan sel. Gula merupakan sumber karbon sebagai komponen penyusun karbohidrat, lipid, protein, dan asam nukleat. Ketersediaan sumber karbon pada media yang terpenuhi akan mempercepat pertumbuhan sel (Murashige and Skoog, 1962; Dodds, *et al.*, 1993).

Setiap sel memiliki kecepatan berbeda dalam waktu pertumbuhan. Waktu pembelahan sel tidak sama karena setiap sel memiliki siklus sel yang berbeda (Campbell, *et al.*, 2002). Perbedaan laju pertumbuhan sel selain dipengaruhi zat pengatur tumbuh, juga dipengaruhi kondisi materi genetik, usia jaringan eksplan, jenis spesies dan faktor lingkungan seperti intensitas cahaya, ketersediaan O₂, kelembapan ataupun suhu ruang inkubasi (Zulkarnain, 2009).

2.6 Hormon Pertumbuhan

Hormon pertumbuhan (*plant hormone*) merupakan zat organik yang disintesis di dalam tanaman, dengan kadar minimal mampu mempengaruhi proses fisiologis tanaman. Hormon biasanya di translokasikan dari bagian yang mensintesis menuju ke bagian tanaman lainnya. Hormon pertumbuhan disebut juga sebagai hormon endogen (Abidin, 1983, Zulkarnain, 2009). Zat pengatur tumbuh (*plant regulator*) adalah senyawa organik dengan kadar sedikit mampu mendukung (*promote*), merubah, atau menghambat (*inhibit*) proses fisiologi tanaman. Zat pengatur tumbuh disebut juga dengan hormon eksogen (Abidin, 1983; Nambara dan Marion-Poll, 2005; Teale, *et al.*, 2006).

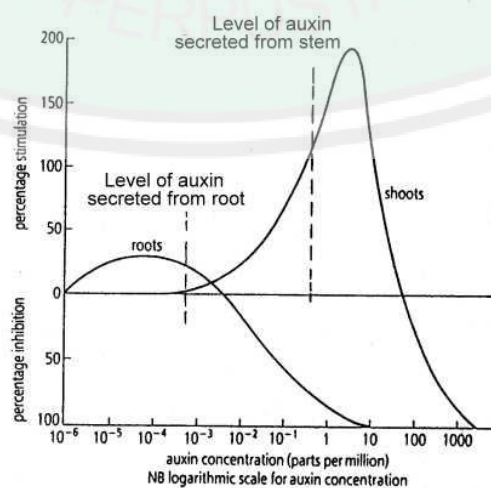
Penambahan zat pengatur tumbuh mampu memicu respon pertumbuhan eksplan pada masa inkubasi. Respon pertumbuhan terjadi karena adanya interaksi antara zat pengatur tumbuh dengan hormon endogen (Centeno, *et al.*, 1997). Zat pengatur tumbuh memiliki peranan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan morfologi dan fisiologi tanaman secara *in vitro*. Pertumbuhan dapat terjadi dikarenakan adanya interaksi antar golongan hormon. Hormon tumbuh yang memiliki peranan dalam proses pertumbuhan adalah auksin dan sitokinin (Sezgin dan Mustafa, 2018).

Auksin merupakan hormon tumbuh yang pasti ada dalam proses pertumbuhan dan perkembangan (Davies, 2004). Auksin endogen antara lain IAA (*Indole-3-*

acetic acid), IAN (*Indole-3-acetonitrile*), Iac (*Indole-3-acetaldehyde*), IpyA (*Indole-3-pyruvic acid*), dan *Ethylindoleacetate*. Sedangkan auksin eksogen antara lain NAA (*1-Naphthaleneacetic acid*), 2,4D (*2,4-dichlorophenoxyacetic acid*), IBA (*Indole-3-butyric acid*), IPA (*Indole-3-propionic acid*), PAA (*Phenoxy acetic acid*), dan 2,4,5-T (*2,4,5-trichlorophenoxy acetic acid*) (Abdinin, 1983; Jamwal, *et al.*, 2017).

Auksin endogen yang banyak terdapat pada tanaman umumnya adalah IAA (*indole-3-acetic acid*). IAA berfungsi mengontrol transkripsi dan regulasi berbagai proses perkembangan (Groner dan Friml, 2015). Respon auksin tergantung pada konsentrasi auksin lokal (endogen) yang berasal dari biosintesis auksin, metabolisme dan hasil transportasi. Auksin endogen IAA (*indole acetic acid*) merupakan turunan dari *tryptophan* (Vanneste dan Friml, 2009; Groner dan Friml, 2015).

Stimulasi auksin endogen tanaman monokotil terdapat pada saat pertumbuhan koleoptil (*coleoptile*). Tanaman dicotyledon mensintesis auksin pada pucuk yang berdaun (*leafy shoot*) kemudian, auksin ditranslokasikan melalui *petiole* menuju batang (Christie dan Murphy, 2013; Park, *et al.*, 2017). Daerah meristemik seperti tunas (jaringan meristem apikal) dan daerah pemanjangan akar (jaringan korteks) memiliki kadar auksin yang tinggi dan aktivasi IAA oksidasenya rendah. Sedangkan, di daerah perakaran, kandungan auksin rendah dan aktivasi IAA oksidase tinggi (Abidin, 1983; Bailly, *et al.*, 2006; Geisher dan Murphy, 2006; Kramer dan Ethan, 2015) (Gambar 2.5). Jaringan meristem apikal tunas dapat mensintesis auksin sebanyak 50 nM/jam setiap selnya (Barratt, *et al.*, 1999).



Gambar 2.5 Grafik konsentrasi auksin endogen pada setiap organ tanaman (Audus, 1959)

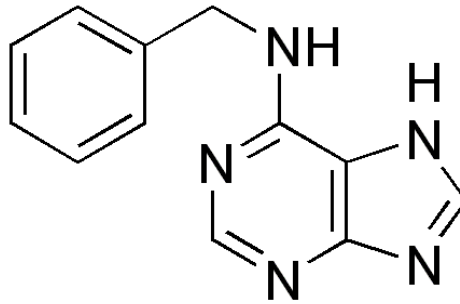
Faktor-faktor yang mempengaruhi konsentrasi IAA antara lain; sintesis auksin, pemecahan auksin, dan inaktifnya IAA dikarenakan proses pemecahan molekul. Foto oksidasi dan enzim dapat mengoksidasi IAA sehingga inaktif. Pigmen yang berperan dalam foto oksidasi adalah *riboflavin* dan β -*carotene*. Fungsi auksin antara lain untuk merangsang pemanjangan sel, phototropisme, geotropisme, dominansi apikal, pertumbuhan akar, partenokarpi, zona absisi, dan pembentukan kalus. (Abidin, 1983).

Sitokinin merupakan zat yang berperan dalam proses pembelahan sel (*cell division*). Sitokinin dicirikan sebagai zat yang memiliki struktur adenin (*6-amino purine*). Sitokinin dalam kultur jaringan (*in vitro*), bertindak dalam induksi dan perkembangan sel meristematik yang mengarah pada pembentukan kalus dan / atau organ, terutama tunas (Peeters, *et al.*, 1991; Leshem, *et al.*, 1994; Centeno, *et al.*, 1997) Sitokinin endogen antara lain Z (*Zeatin*), tZ (*trans-zeatin*), *Ribosylzeatin*, ip (*Isopentynyladenine*), dan *Dihidrozeatin*. Sedangkan sitokinin eksogen antara lain BA (*6-Benzyl adenine*), BAP (*6-Benzyl amino purine*), kinetin (*6-Phenyl amino purine*), TDZ (*Thidiazuron*), dan PBA (*N-Benzyl-9-(2-etrahydropyranyl) adenine*) (Jamwal *et al.*, 2017).

Sitokinin disintesis di akar dan ditranslokasikan ke tunas dan daun (Sakakibara, 2010). Sitokinin tipe tZ (*trans-zeatin*) disintesis dari akar. Sitokinin tipe ip (*Isopentynyladenine*) dapat disintesis di akar ataupun tunas dan ditranslokasikan keatas (*acropetal*) melalui xilem atau kebawah (*basipetal*) melalui floem (Hirose, *et al.*, 2008; Kudo, *et al.*, 2010).

2.7 6-Benzyl Adenine

Zat pengatur tumbuh BA (*6-benzyl adenine*) merupakan senyawa sintesis golongan sitokinin yang dapat menstimulasi terjadinya pembelahan sel (*proliferasi*) (Zhao, *et al.*, 2005). Kehadiran BA dalam eksplan kultur jaringan menyebabkan modifikasi metabolisme sitokinin aktif endogen seperti Z (*Zeatin*), diH (*dihidrozeatin*), dan *9-ribosides* (Hansen, *et al.*, 1987; Kaminek dan armstrong, 1990; Vankova, *et al.*, 1991).



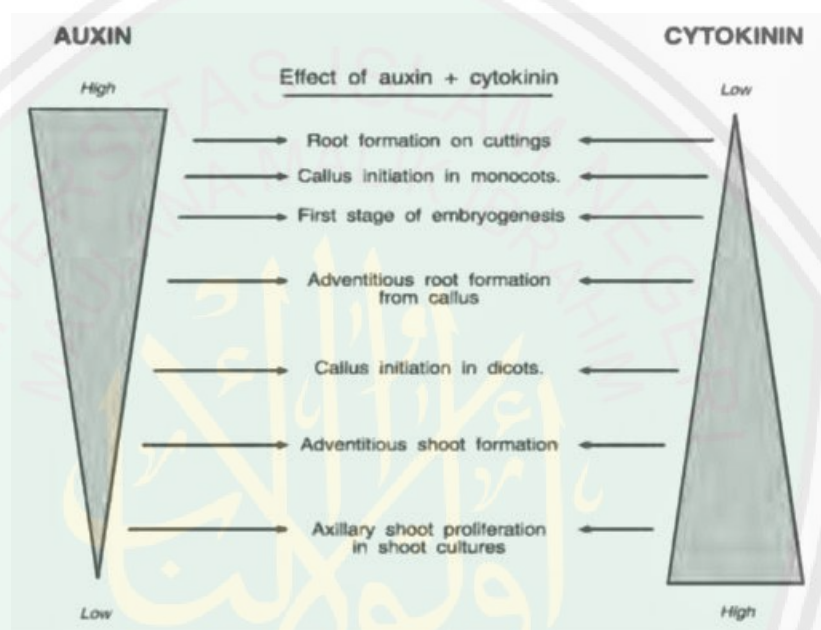
Gambar 2.6 Struktur molekul *6-Benzylaminopurine* (BAP) (Gaspar, 1996)

Reaksi BA dalam menstimulasi proliferasi sel adalah reaksi tidak langsung (*indirect*). BA termasuk jenis sitokinin aktif, yang kinerjanya menstimulasi/meningkatkan aktifitas sitokinin alami (endogen) jaringan eksplan. (Kuiper, *et al.*, 1989; Feito, *et al.*, 1994; Feito, *et al.*, 1995). Penerapan sitokinin eksogen pada kultur *in vitro* mengakibatkan respon pada eksplan, khususnya BA yang mempengaruhi konsentrasi hormon sitokinin bebas dalam jaringan (Auer *et al.*, 1992). Kehadiran BA dalam eksplan mampu memodifikasi tingkat dan metabolisme sitokinin aktif lainnya seperti *Zeatin* (Z), *dihydrozeatin* (diH) Z dan *9-ribosida* dan mempengaruhi respon proliferasi jaringan yang dikultur (Hansen *et al.*, 1987; Kaminek dan Armstrong, 1990; Vankova *et al.*, 1991).

Penambahan BA eksogen mampu menstimulasi aktivitas hormon endogen diH (*dihydrizeatin*), dan *9-ribosides* dalam kultur *in vitro* eksplan *petiolus* kiwi (*Actinidia deliciosa*) (Van Der Krieken, *et al.*, 1990; Heylen dan Vendrig, 1991). Selama proses penyerapan BA eksogen dari awal inisiasi hingga konsentrasi BA optimal pada kalus kiwi (*Actinidia deliciosa*), diketahui bahwa kadar hormon endogen Z (*Zeatin*), diH (*dihydrizeatin*), dan *9-ribosides* pada *petiolus* kiwi dalam konsentrasi rendah (McGaw, 1985). Setelah fase penyerapan optimal, BA eksogen akan didegradasi oleh enzim sitokinase oksidatif sehingga konsentrasinya menurun. Selanjutnya, konsentrasi sitokinin endogen (Z, diH, dan *ribosides*) akan naik hingga mampu mempertahankan aktivitas di dalam jaringan kiwi dikarenakan sitokinin endogen tahan terhadap enzim degradatif (Chatfield dan Armstrong, 1986; Centeno, *et al.*, 1996).

2.8 Pengaruh Pemotongan dan Penambahan Sitokinin Eksogen BA terhadap Respon Pertumbuhan Biji Delima Hitam

Perkembangan sel dipengaruhi oleh peranan sitokin dan auksin. Batang *Tobacco* yang dikultur *in vitro* menunjukkan bahwa apabila penambahan konsentrasi sitokinin lebih besar daripada auksin maka akan mesntimulasi terbentuknya tunas dan daun. Jika sitokinin lebih rendah dari auksin, maka mengakibatkan stumulasi pertumbuhan akar. Jika perbandingan penambahan sitokin dan auksin berimbang, maka pertumbuhan tunas, daun, dan akar akan seimbang. Sedangkan jika penambahan konsentrasi sitokinin sedang dan konsentrasi auksin rendah maka akan tumbuh kalus (Abidin, 1983) (Gambar 2.7).



Gambar 2.7 Interaksi antara konsentrasi auksin dan sitokinin dalam organogenesis (Wareing dan Philips, 1970)

Eksplan nodus dan kotiledon delima pada media MS yang ditambahkan hormon eksogen tunggal BA dengan konsentrasi 2,2-23,0 M mampu mempengaruhi proliferasi tunas secara signifikan (Naik, *et al.*, 2000). Meristem apikal eksplan delima telah berhasil di kultur pada media setengah MS (*Murashige and Skoog*) dengan penambahan 2,0 ppm BA (*6-Benzyladenine*) dan 30 g/L sukrosa (Singh dan Khawale, 2006). Respon embriogenik pada delima bergantung pada potensi morfogenik dari berbagai jenis organ vegetatif. Organogenesis pucuk (*indirect organogenesis*) dan embriogenesis somatik (*somatic embriogenesis*) untuk induksi kalus yang paling efektif adalah akar, hipokotil, batang, tunas, dan daun pada delima kultivar 'Kandhari' (Jaidka dan Mehra, 1986).

Delima kultivar 'Nana' tidak membutuhkan auksin untuk induksi perakaran dan hanya membutuhkan sitokinin konsentrasi tertentu untuk mampu menginduksi pertumbuhan yang diinginkan (Yang dan Ludders, 1993; Kanwar, *et al.*, 2010). Regenerasi planet juga dapat dilakukan dari kultur suspensi yang berasal dari kalus daun delima kultivar 'Nana'. Segmen daun yang dikultur pada media dengan penambahan BA konsentrasi 0,1-1,5 ppm mampu menginduksi terbentuknya tunas (Teixeria, *et al.*, 2013). Durasi minimum untuk menginduksi kalus dari segmen daun adalah 8,8 hari, sedangkan kotiledon membutuhkan 10 hari pada media Nitsch dengan BA (0; 1; 3 ppm) (Nitsch dan Nitsch,1969).

Kombinasi sitokinin dan auksin secara umum telah digunakan untuk inisiasi kultur dan perbanyakan proliferasi/multiplikasi tunas tanaman delima. Induksi kalus terbaik delima terdapat pada eksplan kotiledon dengan penambahan 13,0 M NAA dan 13,5 M BA dengan hasil 81,79%. Namun, dalam organ lain, eksplan dapat menghasilkan respon pertumbuhan yang berbeda (Raj dan Kanwar, 2010). Perkembangan kultur *in vitro* delima dapat efisien jika dalam media kultur ditambahkan auksin eksogen mulai dari konsentrasi 0,75-2 ppm. Namun, di dalam sel delima kemungkinan memiliki kadar hormon endogen tertentu, sehingga penambahan hormon eksogen dengan konsentrasi berbeda dapat menghasilkan pertumbuhan yang berbeda (Damiano, *et al.*, 2008).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Variabel Penelitian

Variabel penelitian yang digunakan antara lain:

1. Variabel bebas meliputi: penambahan ZPT *Benzyladenine* (BA) dengan konsentrasi berbeda dengan metode pemotongan ujung dan pangkal biji delima hitam.
2. Variabel terikat meliputi : pertumbuhan kalus (hari muncul kalus, persentase kalus, berat total kalus), respon pertumbuhan organ (kotiledon, hipokotil, akar, dan tunas), dan hari muncul tunas.
3. Variabel kontrol meliputi : media MS, suhu inkubasi 21°C, dan cahaya lampu kultur dengan 178-210 Lux.

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Variabel bebas yaitu penambahan sitokinin jenis BA konsentrasi (0 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm, dan 2,5 ppm) menggunakan 4 ulangan, dengan total 24 satuan percobaan dalam setiap jenis pemotongan (Tabel 3.1). Metode pemotongan dibagi menjadi dua jenis yaitu ujung (U) dan pangkal (P) biji. Bagian pangkal merupakan bagian yang dekat dengan celah mikropil biji.

Tabel 3.1 Perlakuan penelitian

Perlakuan	Pemotongan Biji	
	Ujung	Pangkal
0	0U	0P
0,5	0,5U	0,5P
1	1U	1P
1,5	1,5U	1,5P
2	2U	2P
2,5	2,5U	2,5P

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober sampai Desember 2019. Penelitian dilakukan di laboratorium kultur jaringan tumbuhan Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Alat dan bahan

3.4.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian antarlain : *laminar air flow* (LAF), oven, *autoklaf*, neraca analitik, kulkas, botol kultur, cawan petri, gelas beker, gelas ukur, *erlenmeyer*, kompor, Bunsen, korek api, mikroskop, pH meter, *object glass*, *cover glass*, *hot plate*, *stirrer*, dan alat diseksi (pinset, *blade*, *scalpel*, dan gunting).

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain biji delima hitam (*Punica granatum* L.) , media *Murashige & Skoog* (MS), gula, agar, aquades, aquades steril, plastik tahan panas petromax, karet, wipol, alkohol 70%, alkohol 96%, fungisida, bakterisida, *clorox*, spirtus, kertas label, *aluminium foil*, tisu, betadin, zat pengatur tumbuh *Benzyl Adenin* (BA).

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Ruangan

Sterilisasi ruang Inisiasi dilakukan dengan menyiapkan alat-alat inisiasi berupa alat diseksi, cawan petri, dan Bunsen. Selanjutnya meja LAF dibersihkan dengan cara menyemprot alkohol 70% yang dilap tisu. Kemudian, LAF ditutup dan selanjutnya disterilkan menggunakan lampu UV selama 1 jam.

3.5.2 Sterilisasi Alat

Prosedur kerja dalam sterilisasi alat-alat dibagi menjadi dua. Pertama peralatan diseksi, cawan petri, gelas ukur, dan botol kultur dicuci menggunakan detergen. Selanjutnya, peralatan dibilas dengan air bersih. Kemudian, peralatan dioven selama 3 jam pada suhu 121°C. Kedua, peralatan diseksi dibungkus menggunakan *aluminium foil* dan peralatan cawan petri dibungkus menggunakan kertas. Selanjutnya, dibungkus keduanya menggunakan plastik dan diikat karet gelang. Kemudian, peralatan disterilkan menggunakan *autoklaf* pada suhu 121 °C selama 30 menit dengan tekanan 1 atm.

3.5.3 Pembuatan Media

Media dasar yang digunakan untuk penelitian adalah *Murashige & Skoog* (MS). Langkah pembuatan media yaitu dengan menimbang 4,43 g MS instan, 30 g gula, dan 10 g agar menggunakan neraca analitik. Kemudian, media MS dan gula dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* ukuran 1 Liter. Selanjutnya, ditambahkan aquades sampai volume mencapai 1 Liter. Larutan media dihomogenkan menggunakan *stirrer* dan *hot plate*. Selanjutnya, agar ditambahkan dalam *erlenmeyer* dan dipanaskan dengan kompor sampai mendidih. Selanjutnya, media diangkat dan ditambahkan masing-masing hormon perlakuan. pH diukur antara 5,6-5,8, jika pH media terlalu asam maka ditambahkan sedikit NaOH, sedangkan jika terlalu basa ditambahkan HCl. Media dimasukkan ke dalam masing-masing botol kultur yang telah diberikan label sesuai perlakuan, kemudian ditutup dengan plastik dan karet gelang. Langkah terakhir, media disterilkan menggunakan *autoklaf* pada suhu 121°C selama 30 menit dengan tekanan 1 atm.

3.5.4 Tahap Induksi Eksplan

3.5.4.1 Sterilisasi Eksplan

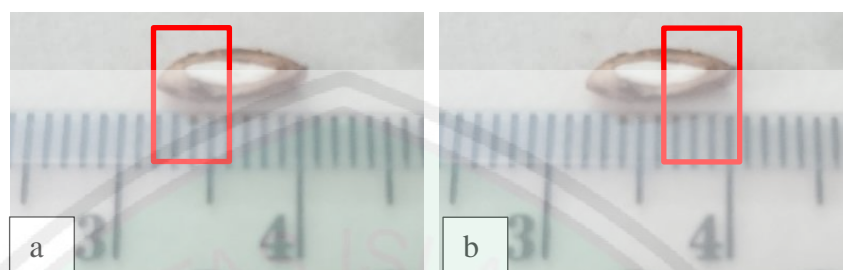
Langkah sterilisasi eksplan yaitu diambil buah delima hitam dengan kondisi bagus. Selanjutnya, diambil biji delima hitam dengan ukuran yang sama ± 6 mm dan dialiri air mengalir selama 30 menit. Kemudian, dibersihkan arilus biji menggunakan kain. Selanjutnya biji direndam dalam larutan wipol 2% (v/v) selama 30 menit dan dibilas air 3 kali. Kemudian direndam bakterisida 1% (v/v) selama 30 menit dan dibilas air 3 kali. Selanjutnya direndam fungsida 2% (v/v) selama 30 menit dan dialiri air mengalir selama 30 menit.

Sterilisasi di dalam LAF dilakukan dengan tahapan biji derendam dalam larutan clorox (mengandung NaClO 5,25%) 30% (v/v) selama 15 menit. Kemudian, direndam clorox 10% (v/v) selama 5 menit. Selanjutnya, direndam alkohol 70% selama 3 menit. Kemudian biji dibilas dengan menggunakan aquades steril sebanyak 3 kali, masing-masing 5 menit.

3.5.4.2 Inisiasi Eksplan

Tahapan inisiasi eksplan yang sudah steril yaitu dengan biji dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisikan air steril dan larutan betadin. Dipotong bagian biji 3 mm dari ujung (jauh dengan mikropil) dan 3mm dari pangkal (dekat

mikropil) menggunakan pisau scalpel dan biji dikelompokkan sesuai bagian masing-masing. Eksplan ditanam di dalam media kultur sesuai perlakuan. Setiap botol berisikan 4 potongan biji sesuai bagian masing-masing dan di posisikan berdiri. Botol kultur ditutup dengan plastik dan karet serta diberikan label.



Gambar 3.8 Metode pemotongan. a) Ujung dan b) Pangkal

3.5.4.3 Pemeliharaan

Pemeliharaan eksplan dilakukan dengan botol kultur dipindahkan ke ruang inkubasi pada suhu 21°C, kemudian diletakan di rak kultur sesuai dengan denah rancangan penelitian. Pengamatan dilakukan setiap hari. Setiap 3 hari sekali, botol disemprot dengan alkohol 70%.

3.5.4.4 Pengamatan dan Pengambilan Data

Pengamatan dilakukan setiap hari, bertujuan untuk melihat pertumbuhan dan pengamatan akhir dilakukan setelah minggu keempat setelah inisiasi, meliputi parameter persentase tumbuh.

3.5.4.5 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan yang dilakukan antara lain:

- Respon pertumbuhan merupakan perkembangan pertumbuhan dari awal eksplan tumbuh hingga bentuk morfologi di akhir pengamatan.
- Hari muncul kalus ditandai dengan pembengkakan sel.
- Hari muncul tunas ditandai dengan munculnya mata tunas.
- Berat total kalus ditimbang dari berat basah kalus dari setiap perlakuan.

$$\text{Berat total kalus} = \frac{\sum \text{berat kalus seluruh ulangan}}{\sum \text{ulangan}}$$

- Persentase tumbuh kalus dihitung dari banyaknya eksplan yang terdapat pertumbuhan

$$\% \text{ tumbuh} = \frac{\text{eksplan yang tumbuh}}{\sum \text{eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

- f. Persentase pertumbuhan (kotiledon, hipokotil, akar dan tunas) dihitung dari banyaknya eksplan yang terdapat pertumbuhan.

$$\% \text{ tumbuh} = \frac{\text{eksplan yang tumbuh}}{\Sigma \text{eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

3.6 Analisis Data

Analisi pertama data penelitian berdasarkan parameter yang diamati meliputi pertumbuhan kalus (*callogenesis*) dan respon pertumbuhan organ (kotiledon, hipokotil, akar, dan tunas). Parameter kuantitatif yang diamati adalah pertumbuhan kalus (hari muncul kalus, persentase kalus, dan berat total kalus), persentase pertumbuhan organ (kotiledon, akar, dan tunas), dan hari muncul tunas. Parameter kuantitatif dianalisis normalitas dan homogenitas data. Jika data memenuhi persyaratan uji parametrik, maka diuji statistik dengan Analisis Variansi (ANOVA) dengan batas kepercayaan 95% menggunakan aplikasi SPSS 19.0. Jika berbeda nyata maka diuji lanjut sesuai nilai keragaman koefisien (KK) batas kepercayaan 95%. Jika tidak berbeda nyata maka dibahas secara deskriptif (kualitatif). Analisis kedua yaitu analisis integrasi sains dan islam. Analisis tersebut adalah analisis nilai-nilai Islam dan kajian keislaman dengan berpedoman dari kitab suci Al Qur'an dan Al- Hadits yang diintegrasikan dengan hasil akhir penelitian.

3.7 Desain Penelitian

(Lampiran)

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Penambahan BA terhadap Respon Morfogenesis Biji Delima Hitam Menggunakan Metode Pemotongan Biji

Pemotongan biji delima hitam dilakukan untuk mengetahui respon morfogenesis pertumbuhan pada setiap bagian biji. Pemotongan biji dikelompokkan menjadi 2 bagian yaitu: ujung dan pangkal biji. Data yang diperoleh berupa data kualitatif (Tabel 4.2).

Tabel 4.2 Respon morfogenesis penambahan BA dengan metode pemotongan biji

Metode Pemotongan	Konsentrasi BA (ppm)	Organ Tumbuh			Respon Morfogenesis	
		Kotiledon	Hipokotil	Radikula	Kalus	Tunas
Ujung	0	V	-	-	-	-
	0,5	V	-	-	V	-
	1	V	-	-	V	-
	1,5	V	-	-	V	-
	2	V	-	-	V	-
	2,5	V	-	-	V	-
Pangkal	0	V	V	V	-	V
	0,5	V	V	V	-	V
	1	V	V	V	-	V
	1,5	V	V	V	-	V
	2	V	V	V	-	V
	2,5	V	V	V	-	V

Keterangan: (V) = ada ; (-) = tidak ada

Hasil penambahan BA konsentrasi berbeda dengan metode pemotongan menghasilkan respon morfogenesis yang berbeda. Pemotongan ujung biji menghasilkan pertumbuhan kalus, kecuali perlakuan kontrol 0 ppm BA. Pemotongan pangkal biji setiap perlakuan menghasilkan pertumbuhan kotiledon, hipokotil, radikula, dan tunas. Perbedaan respon pertumbuhan pada penambahan BA menggunakan metode pemotongan pangkal biji delima hitam disebabkan karena penambahan konsentrasi antara auksin dan sitokin pada satu spesies ataupun organ berbeda antara satu dengan yang lain (Gambar 4.10). Menurut Abidin (1983) Pada batang *Tobacco* yang dikultur *in vitro* menunjukkan bahwa apabila penambahan konsentrasi sitokin lebih besar daripada auksin akan

menstimulasi terbentuknya tunas dan daun. Jika penambahan sitokinin lebih rendah dari auksin, maka mengakibatkan stimulasi pertumbuhan akar. Jika perbandingan penambahan sitokinin dan auksin berimbang, maka pertumbuhan tunas, daun, dan akar akan seimbang. Sedangkan jika penambahan konsentrasi sitokinin sedang dan konsentrasi auksin rendah maka akan tumbuh kalus.

4.2 Pengaruh Penambahan BA terhadap Respon Pertumbuhan Biji Delima Hitam Menggunakan Metode Pemotongan Ujung Biji

Pemotongan ujung biji delima hitam dengan penambahan hormon eksogen BA konsentrasi berbeda dapat menginduksi kalus (Tabel 4.3). Menurut Effert (2019) bahwa kalus merupakan kumpulan sel-sel amorf yang bersifat meristematik dan belum mengalami diferensiasi sel.

Tabel 4.3 Hasil pertumbuhan kalus ujung biji delima hitam

Konsentrasi BA (ppm)	Hari Muncul Kalus (HST)	Persentase Tumbuh Kalus (%)	Berat Total Kalus (mg)	Morfologi	
				Tekstur	Warna
0,5	14,42c	62,50a	220,00ab	Remah	Hijau
1	11,39ab	87,50ab	375,00b	Remah	Hijau coklat
1,5	11,31a	75,00ab	637,00c	Remah	Hijau coklat
2	12,65b	81,25ab	377,50b	Remah	Hijau
2,5	12,49b	93,75c	322,00b	Remah	Hijau

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama, menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan berdasarkan uji lanjut 5%.

Hari muncul kalus tercepat terdapat pada perlakuan BA konsentrasi 1,5 ppm dengan waktu 11,31 hari setelah tanam (HST). Perlakuan tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan 1 ppm BA (11,39 HST), namun berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lain (Tabel 4.3). Menurut Rohmah (2018) penambahan BA konsentrasi 1,5 ppm mampu menginduksi kalus pada hari ke 20,47 setelah tanam. Menurut Nitsch dan Nitsch (1969) kalus delima dapat terbentuk pada media Nitsch dengan penambahan BA (0,1-4,3 ppm) dari segmen daun dengan waktu 8,8 HSI, dan kotiledon dengan waktu 10 HSI.

Persentase tumbuh kalus terbaik terdapat pada perlakuan BA konsentrasi 2,5 ppm dengan persentase 93,75%. Konsentrasi BA 2,5 ppm memberikan respon pertumbuhan kalus terbaik dan berbeda nyata dibandingkan perlakuan lain (Tabel

4.3). Menurut Raj dan Kanwar (2010) Induksi kalus terbaik delima terdapat pada eksplan kotiledon dengan penambahan 13,0 M NAA dan 13,5 M BA dengan hasil 81,79%. Menurut Ling, *et al* (2013) bahwa untuk menginduksi kalus, eksplan perlu dikultur pada media yang mengandung zat pengatur tumbuh. Menurut Granatek dan Cockerline (1979) menjelaskan bahwa pembentukan kalus dapat terjadi disebabkan oleh aktivitas hormon auksin dan sitokinin. Menurut von Aderkas (2002) pengaplikasian sitokinin eksogen *benzyladenine* dapat menyebabkan penurunan jumlah kotiledon, dikarenakan pengalihan respon pertumbuhan dari kotiledon menjadi kalus.

Berat total kalus terbaik terdapat pada perlakuan BA konsentrasi 1,5 ppm dengan berat total 637 mg. Perlakuan tersebut berbeda nyata dibandingkan perlakuan lain (Tabel 4.3). Menurut Jimenez (2005) dan Jia, *et al* (2014) komposisi media dan konsentrasi zat pengatur tumbuh berperan dalam perkembangan diferensiasi kalus. Menurut Mathur dan Shekhawat (2013) dan Ardestani, *et al* (2015) bahwa konsentrasi hormon tumbuh spesifik yang diperlukan untuk dapat menginduksi kalus bervariasi dari satu spesies dengan spesies lain, tergantung pada sumber eksplan. Konsentrasi zat pengatur tumbuh yang optimal tergantung pada banyak faktor seperti genotip tanaman dan jenis eksplan yang digunakan.

Pemotongan ujung biji pada konsentrasi BA 0 ppm kotiledon yang tumbuh tidak mengalami pertumbuhan lebih lanjut (Gambar 4.9). Hal ini disebabkan dalam pertumbuhan tanaman saat berkecambah, fungsi kotiledon hanya sebagai cadangan energi pertumbuhan dan semakin lama akan semakin menyusut hingga habis dikarenakan proses katabolisme karbohidrat (Kamil, 1979). Menurut menurut Ray, *et al* (2011), Mathur dan Shekawat (2013), dan Das, *et al* (2018) tanpa adanya penambahan zat pengatur tumbuh, eksplan kultur tidak dapat menginduksi terbentuknya organogenesis, kalus ataupun tunas. Menurut Centeno, *et a* (1997) Kehadiran BA dapat menginduksi respon pembentukan kalus (*callogenic*) pada *petiolar* kiwi (*Actinidia deliciosa*). Sebaliknya perlakuan tanpa adanya BA tidak menunjukkan adanya proses pertumbuhan. Menurut Ling, *et al* (2013) bahwa pada media dengan tanpa penambahan zat pengatur tumbuh pada eksplan daun *Labisia pumila* tidak menunjukkan adanya pertumbuhan lebih lanjut.

Daun semakin lama menjadi coklat, tidak sehat dan mati pada 5 minggu setelah inisiasi.

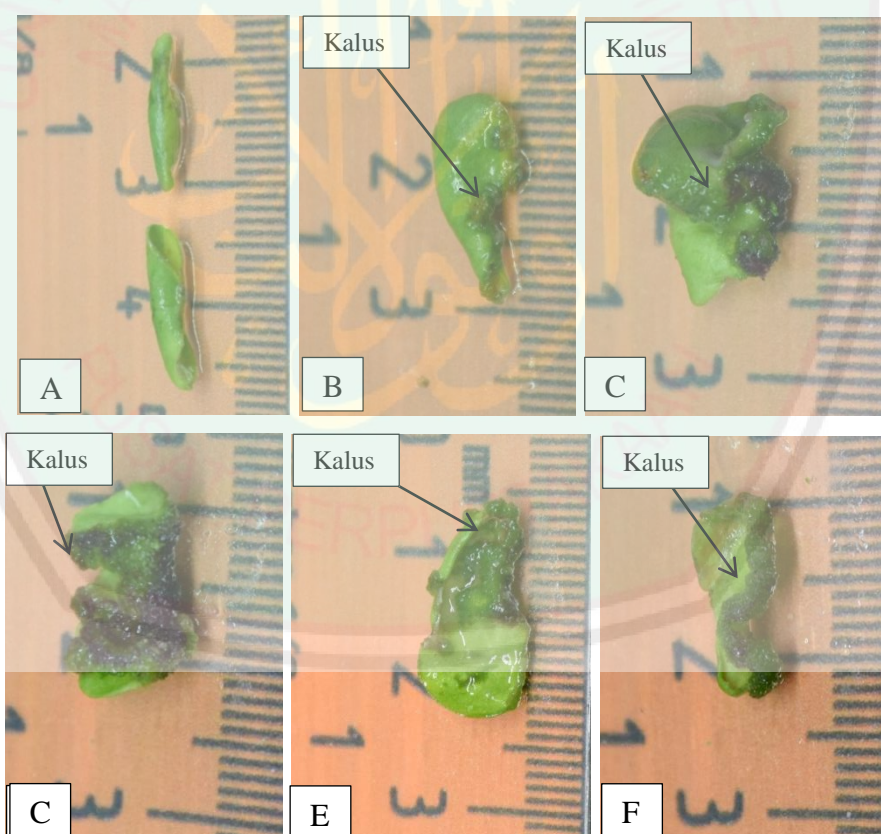
Perlakuan eksplan ujung biji delima hitam hanya menambahkan zat pengatur tumbuh (hormon eksogen) BA pada media kultur. Pertumbuhan kalus terjadi pada bagian kotiledon ujung biji dengan penambahan 0,5-2,5 ppm BA. Menurut Rohmah (2018) penambahan BA konsentrasi 0,5-2,5 ppm pada ujung biji delima hitam mampu menginduksi kalus. Induksi kalus kotiledon pada delima hitam hormon sitokinin eksogen (BA) tidak dapat bekerja sendiri, melainkan membutuhkan auksin. Dikarenakan dalam penelitian tidak menambahkan auksin eksogen, maka dapat diasumsikan terinduksinya kalus merupakan respon antara sitokinin eksogen (BA) dengan auksin endogen pada kotiledon. Menurut Chandler (2008) pada tanaman dikotil, kotiledon merupakan organ lateral dan termasuk tunas meristem apikal yang berada pada posisi sentral. Menurut Sezgin dan Mustafa (2018) zat pengatur tumbuh (hormon eksogen) dapat berperan mengendalikan pertumbuhan tanaman. Menurut Chandler (2008) Sitokinin endogen dapat berperan dalam pertumbuhan kotiledon hingga fase organogenesis daun.

Faktor yang menyebabkan kotiledon ujung biji delima membentuk kalus dikarenakan pada kotiledon ujung biji delima hitam telah mengandung hormon auksin endogen. Menurut Kiranmai, *et al* (2015) hormon endogen dalam eksplan dapat menentukan kemampuan dalam menginduksi kalus. Menurut Ljung, *et al* (2001) auksin dapat disintesis di dalam daun muda dan kotiledon. Menurut Benkova, *et al* (2003) pada embrio yang sedang berkembang, auksin terakumulasi di ujung kotiledon.

Induksi kalus hanya terjadi pada kotiledon ujung dan tidak terjadi pada kotiledon tengah dan pangkal biji. Menurut Reinhardt, *et al* (2003), Reinhardt (2005), Heisler, *et al* (2005) dan Jonsson, *et al* (2006) bahwa kotiledon dan daun muda (*primordia*) memiliki protein pensinyalan auksin PIN1 sehingga memiliki kadar auksin maksimum dari hasil translokasi asimetrik auksin. Selanjutnya, sejalan dengan perkembangan kotiledon, PIN1 menjadi terlokalisasi di sisi basal mengikuti perkembangan sel-sel vaskular untuk mengarahkan aliran auksin ke pusat primordium secara basipetal di dalam embrio. Menurut Friml, *et al* (2003)

auksin merupakan pengatur utama perkembangan kotiledon. Di dalam sel kotiledon (domain apikal sentral), terdapat lokus yang terlibat dalam biosintesis auksin dan terdapat protein transporter TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1 (TIR1) yang merespon sensitivitas translokasi auksin keatas atau kebawah. Selain TIR1, terdapat pula protein PINFORMED (PIN1), YUCCA (Cheng, *et al.*, (2007) dan TIR (Dharmasiri, *et al* (2005).

Kalus yang terbentuk berada pada bagian tepi kotiledon yang mengalami luka akibat pemotongan. Menurut Kramer dan Ethan (2015) luka akibat pemotongan pada batang dan daun dapat dapat mengakibatkan akumulasi auksin. Hal tersebut dikarenakan luka yang memecah jalur transportasi auksin. Menurut Wilson, *et al* (1998) dan Kramer, *et al* (2008) protein PINFORMED (PIN) akan terus memompa auksin ke zona luka. Menurut Sauer, *et al* (2006) akumulasi auksin akan tinggi pada zona luka dan menstimulasi pembelahan sel, namun membutuhkan waktu beberapa hari.



Gambar 4.9 Perbedaan hasil pertumbuhan kalus ujung biji delima berbagai konsentrasi BA. a) 0 ppm ; b) 0,5 ppm; c) 1 ppm; d) 1,5 ppm; e) 2 ppm; f) 2,5 ppm

Kalus biji delima hitam memiliki tekstur remah hingga intermediet (Tabel 4.3). Menurut Ikeuchi, *et al* (2013) kalus remah merupakan kalus yang mudah terurai dan tidak mudah terjadi oksidasi zat fenolik. Sel-sel kalus remah mudah berkembang biak, sehingga sering digunakan dalam suspensi sel. Kalus dengan tekstur remah memiliki masa perbanyakan dan pertumbuhan (proliferasi) kalus yang lebih panjang dibandingkan kalus intermediet atau kompak.

Warna kalus biji delima hitam antara hijau hingga berwarna kecoklatan (Gambar 4.9). Menurut Chaugule, *et al* (2005) warna kalus menentukan kandungan senyawa metabolit yang terdapat pada eksplan. Warna kalus hijau disebabkan karena pigmen klorofil, yang berasal dari interaksi pemberian hormon eksogen yang menginduksi terbentuknya kalus. Terdapatnya klorofil mengindikasikan kalus mampu melakukan proses fotosintesis dan metabolisme lain. Warna coklat pada kalus disebabkan adanya senyawa fenolik yang disintesis.

4.3 Pengaruh Penambahan BA terhadap Respon Pertumbuhan Biji Delima Hitam Menggunakan Metode Pemotongan Pangkal Biji

Pemotongan pangkal biji delima hitam dengan penambahan hormon eksogen BA konsentrasi berbeda mengakibatkan respon pertumbuhan yang berbeda. Perbedaan respon pertumbuhan yang terbentuk antara lain berupa tumbuhnya akar primer, hipokotil, kotiledon, dan tunas (Tabel 4.4). Perbedaan respon pertumbuhan disebabkan perbedaan interaksi hormon pertumbuhan (Sezgin dan Mustafa, 2018).

Tabel 4.4 hasil respon pertumbuhan organ pangkal biji delima hitam

Konsentrasi BA (ppm)	Tunas		Organ Tumbuh (%)		
	Hari Tumbuh	%	Kotiledon	Hipokotil	Akar Primer
0	17,67b	62,50	87,50	68,75	56,25
0,5	19,42bc	56,62	93,75	81,25	56,25
1	23,00d	50,00	75,00	62,50	43,75
1,5	20,96bc	62,50	87,50	56,25	43,75
2	14,88a	75,00	93,75	75,00	62,50
2,5	18,38bc	43,75	81,25	81,25	68,75

Pertumbuhan kotiledon pada pemotongan pangkal biji delima dan penambahan BA memiliki rata-rata persentase tumbuh 75%-93,75% (Tabel 4.4). Menurut Xu, *et al* (2019) bahwa rasio auksin dan sitokinin merupakan faktor

penting dalam menentukan organogenesis dalam kultur *in vitro* tanaman. Menurut Lee dan Huang (2013) hormon endogen tanaman bersama dengan hormon eksogen tanaman akan berinteraksi bersama untuk menginduksi organogenesis pucuk. Karena itu, kadar hormon endogen dalam eksplan yang dikultur merupakan faktor yang berpengaruh signifikan dalam organogenesis pucuk. Organogenesis pucuk pada fase perkecambahan tanaman dikotil diawali dengan munculnya kotiledon.

Kotiledon biji pada dikotil merupakan cadangan makanan (*endosperm*) utama pada biji ketika masa perkecambahan. Biji delima hitam memiliki sepasang kotiledon yang lebar. Kotiledon pada biji delima hitam berwarna hijau tua dan terdiri dari sel aktif (Gambar 4.10). Menurut Kamil (1979) endosperma merupakan jaringan penyimpanan cadangan makanan yang berfungsi sebagai bahan penyerapan embrio sebelum dan/atau selama proses perkecambahan biji. kotiledon berwarna hijau dikarenakan mengandung klorofil dan dapat melakukan proses fotosintesis selama daun belum muncul. Menurut Chandler (2008) bahwa kotiledon dan daun pada dikotil memiliki fungsi yang berbeda dalam hal penyimpanan dan fotosintesis serta perbedaan morfologis seperti trikoma dan ketentuan pada daun, namun berdasarkan morfologi komparatif, daun dan kotiledon dianggap homolog.

Pertumbuhan hipokotil pada pemotongan pangkal biji delima dan penambahan BA memiliki rata-rata persentase tumbuh 56%-81,25 % (Tabel 4.4). Proses-proses pertumbuhan hipokotil merupakan fase perkecambahan. Menurut AOSA (2000), dan Maldonado, *et al* (2013) perkecambahan merupakan kemunculan dan perkembangan embrio menuju proses kedewasaan dengan mengalami berbagai organogenesis kompleks sehingga mampu melakukan metabolisme tumbuhan normal.

Pangkal biji merupakan tempat embrio delima hitam berada. Perkembangan embrio pada pangkal biji diawali dengan munculnya kotiledon, hipokotil hingga munculnya akar primer. Pertumbuhan akar primer pada pemotongan pangkal biji delima dan penambahan BA memiliki rata-rata persentase tumbuh 43,75%-68,75 % (Tabel 4.4). Akar primer muncul melalui celah mikropil pada pangkal biji. Menurut Kamil (1979) embrio pada dikotil terdiri dari kotiledon, plumula

(epikotil), dan radikula (hipokotil). Plumula (epikotil) dan radikula (hipokotil) disebut sebagai embrionik aksis (*embrionic axis*).

Menurut Salehi, *et al* (2014) Induksi akar terjadi dikarenakan adanya respon kinerja auksin yang secara basipetal menunjang pembentukan dan pemanjangan akar. Menurut Muller, *et al* (1998); Ljung, *et al* (2001); Ljung, *et al* (2005); Stepanova, *et al* (2005); Stepanova, *et al* (2008); Ikede, *et al* (2009); Yamada, *et al* (2009) ; Evervoorde, *et al* (2015) terbentuknya akar pada tanaman yang di potong ujung tunasnya dikarenakan selain disintesis di tunas, auksin juga disintesis di akar.

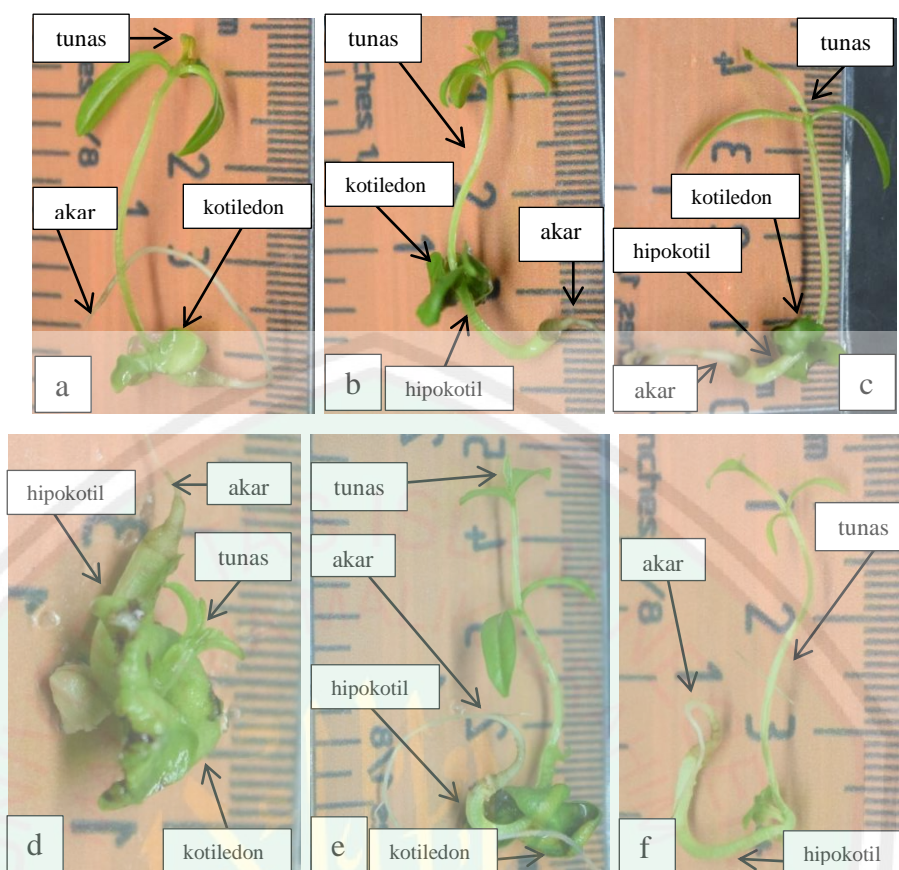
Akar primer pada pangkal biji delima hitam normal, keluar melalui celah mikropil. Menurut Kamil (1979) mikropil merupakan celah yang dibentuk oleh integumen dan pada biji yang sudah dewasa berfungsi sebagai jalan keluarnya akar (*radicula*). Maldonado, *et al* (2013) menambahkan munculnya radikula dari lapisan kulit biji dianggap sebagai fase penyelesaian perkecambahan. Menurut Dolan, *et al* (1993), Birnbaum, *et al* (2005), Laplaze, *et al* (2005), Brady, *et al* (2007), dan Overvoorde, *et al* (2015) akar primer merupakan akar utama pada tumbuhan dikotil. Diferensiasi jaringan pada akar primer ditandai dengan tumbuhnya rambut akar (*hairy root*) disekitar zona pemanjangan. Menurut Pitts, *et al* (1998), Rahman, *et al* (2002), Ishida, *et al* (2008), dan Peret, *et al* (2009) bahwa konsentrasi auksin pada pemanjangan akar primer tergantung pada kadar dosis akar primordia lateral dan respon gravitasi.

Perkembangan selanjutnya yang terjadi pada pangkal biji adalah mulai tumbuhnya epikotil. Pertumbuhan epikotil diatas kotiledon membentuk pertumbuhan tunas apikal yang menyebabkan tumbuhnya daun muda. Hari muncul tunas menunjukkan pertumbuhan tunas tercepat pada perlakuan BA 2 ppm dengan waktu tumbuh 14,88 HST. Perlakuan 2 ppm BA berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lain (Tabel 4.4). Pertumbuhan tunas pada pemotongan pangkal biji delima dan penambahan BA memiliki rata-rata persentase tumbuh 43,75%-75% (Tabel 4.4). Menurut penelitian Rizqi (2019) bahwa pemberian BA konsentrasi 1 ppm dapat menghasilkan waktu muncul tunas tercepat pada biji delima hitam yaitu hari ke 12 setelah tanam. Menurut Teixeira, *et al* (2013) Segmen daun delima kulti 'Nana' yang dikultur pada media dengan

penambahan BA konsentrasi 0,1-1,5 ppm mampu menginduksi terbentuknya tunas. Menurut Naik, *et al* (2000) Nodus kotiledon pada media MS yang ditambahkan BA tunggal dengan konsentrasi 2,2-23,0 M mampu mempengaruhi proliferasi tunas secara signifikan. Menurut Minocha (1987), Krikorian (1995) bahwa sel-sel dalam tanaman yang sama memiliki tingkat perbedaan tingkat hormon endogen dan iasi dalam adinitas reseptor atau sensitivitas seluler terhadap penambahan zat pengatur tumbuh (hormon eksogen). Menurut Chaimil (1998) dan Akbas, *et al* (2009) peningkatan konsentrasi BA meningkatkan jumlah tunas dan menurunkan jumlah kalus pada *Actinidia deliciosa*.

Perbedaan respon pertumbuhan pada perlakuan pemotongan dan penambahan BA biji delima hitam dikarenakan setiap bagian biji terdapat hormon endogen yang berasal dari hasil sintesis ataupun hasil translokasi. Hormon endogen berperan dalam mengendalikan pertumbuhan dan kejadian fisiologis lain. Hormon endogen pada konsentrasi yang sangat rendah efektif pada tempat disintesis maupun ditempat hormon di transfer (Okturen dan Sonmez, 2005). Hormon endogen ditransportasikan dari tempat sintesis menuju tempat aksi (sel target) melalui protein transporter. Tanpa protein transporter, tidak akan ada aksi hormon endogen. Sehingga kehadiran protein transporter berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan (Park, *et al.*, 2017). Hormon tanaman juga dapat disintesis sekaligus digunakan pada sel yang sama tanpa melalui mekanisme transportasi interselular (Davies, 2010; Park, *et al.*, 2017).

Pengangkutan auksin dari sel yang mensintesis menuju sel target yang jauh mengalami beberapa kali siklus perombakan (*recycle*) auksin. Dalam beberapa jarak, auksin yang telah ditransfer akan di rombak oleh sel tertentu selama perjalanan. Hal ini dikarenakan dalam proses transportasi, terkadang auksin diantarkan oleh protein transporter yang berbeda-beda (Zazamilova, *et al.*, 2010). Transportasi lokal merombak auksin setiap 0,3 μ m/detik (Kramer, *et al.*, 2011) dan proses biosintesisnya antara 17 menit hingga berjam-jam (Kramer dan Ethan, 2015). Di akar *Populus tremula* dan *Vicia faba* kecepatan translokasi auksin mencapai 7 cm/ jam (Eliasson, 1972; Tsurumi dan Wada, 1980). Di akar *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, dan *Arabidopsis thaliana* kecepatan translokasi auksin adalah 10 mm/ jam (Bennet, *et al.*, 1996; Swarup, *et al.*, 2001).



Gambar 4.10 Perbedaan hasil pertumbuhan pangkal biji delima berbagai konsentrasi BA. a) 0 ppm ; b) 0,5 ppm; c) 1 ppm; d) 1,5 ppm; e) 2 ppm; f) 2,5 ppm

4.4 Respon Morfogenesis pertumbuhan Biji Delima Hitam (*Punica granatum* L.) dalam Perspektif Islam

Allah SWT telah menciptakan berbagai jenis tumbuhan di bumi. Menurut tafsir Al Misbah oleh Shihab (2002) segala ciptaan memiliki manfaat masing-masing dan tidak ada hal satupun yang sia-sia. Bahkan, dari proses penciptaan tersebut, terdapat berbagai ilmu yang dapat direnungkan oleh manusia untuk dipelajari hikmahnya. Allah SWT berfirman dalam Al Qur'an surat An-Naba' [78] ayat 15:

لِنُخْرِجَ بِهِ حَبًّا وَنَبَاتًا ﴿١٥﴾

Artinya: "supaya Kami tumbuhkan dengan air itu biji-bijian dan tumbuh-tumbuhan."
Q.S An-Naba[78]: 15

Surat An-Naba' [78] ayat 15 menjelaskan bahwa Allah SWT telah menumbuhkan biji-bijian dari air. Makna dari ayat tersebut dapat diambil

kesimpulan bahwa Allah SWT menumbuhkan biji-bijian yang sebelumnya belum aktif (dormansi) sehingga dapat aktif melalui suatu proses yaitu perkecambahan. Faktor yang menyebabkan terjadinya perkecambahan tersebut tentunya juga telah dijelaskan oleh Allah SWT yaitu melalui media yaitu air.

Air merupakan faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi proses awal aktifnya suatu kehidupan tumbuhan. Ketersediaan air pada suatu biji akan mengaktifkan suatu hormon pertumbuhan seperti giberelin dan hormon promotor lain. Giberelin akan mengaktifkan enzim α dan β amilase yang selanjutnya akan merombak cadangan makanan yang ada pada biji sehingga sel-sel di dalam biji mendapatkan energi untuk melakukan aktifitas metabolisme. Proses tersebutlah yang menunjang pertumbuhan dan perkembangan dari biji yang awalnya non aktif (dormansi) menjadi aktif (Abidin, 1883; Maldonado, *et al.*, 2013).

Allah SWT telah mengingatkan kepada manusia untuk senantiasa memelihara tanaman-tanaman yang ada. Selain memanfaatkan potensi tanaman, manusia juga diperintahkan untuk menjaga kelestarian tanaman yang ada. Allah SWT berfirman dalam surat Al-A'raf [7] ayat 58:

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ ۗ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا
نَكَدًا ۗ كَذَلِكَ نُنصِرُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ﴿٥٨﴾

Artinya: “ dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah; dan tanah yang tidak subur, tanaman-tanamannya hanya tumbuh merana. Demikianlah Kami mengulangi tanda-tanda kebesaran (Kami) bagi orang-orang yang bersyukur.” Q.S Al-A'raf [7]: 58

Surat Al'A'raf [7] ayat 58 merupakan suatu pelajaran bagi manusia untuk senantiasa memelihara tanaman dengan baik. Menurut tafsir Ibnu Katsir (2004) dengan izin Allah SWT akan menumbuhkan tanaman-tanaman yang tumbuh subur dari tanah yang baik, begitupun sebaliknya. Kalimat “tanah yang baik” diartikan sebagai tanah yang dikelola manusia dengan tanggungjawab sehingga dapat menghasilkan pertumbuhan yang baik pula. Tanggungjawab yang dimaksudkan adalah upaya-upaya pemanfaatan tanaman dengan tetap menjaga kelestarian tanaman yang ada. Salah satu tanaman yang memiliki manfaat dan perlu untuk dibudidayakan adalah delima hitam (*Punica granatum L.*).

Kultur *in vitro* merupakan salah satu metode budidaya tanaman melalui prinsip pemanfaatan totipotensi sel secara aseptik. Keberhasilan suatu kultur *in vitro* dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya adalah faktor eksplan yang digunakan. Penelitian kultur *in vitro* tentang delima hitam telah banyak dilakukan. Eksplan yang digunakan untuk penelitian antara lain kotiledon, daun, hipokotil, tunas, akar, dan biji. eksplan tersebut digunakan untuk tujuan induksi morfogenesis kalus, atau organogenesis (tunas dan/ akar), serta multiplikasi tanaman (Dodds, *et al.*, 1993).

Biji sebagai salah satu sumber eksplan merupakan organ yang dapat dimanfaatkan dalam kultur *in vitro* delima hitam (Martinez, *et al.*, 2016). Penggunaan bagian biji dalam suatu kultur *in vitro* dengan tujuan tertentu sering dianggap sebagai faktor yang dianggap sama (homogen). Padahal, sesungguhnya setiap bagian biji tersebut memiliki kandungan dan respon pertumbuhan yang berbeda-beda. Hal tersebut tentunya telah dijelaskan di dalam Al-Qur'an surat Al Qamar[54] ayat 49 yaitu:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٥٤﴾

Artinya: "Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.:
Q.S Al Qomar" [54]: 49

Segala sesuatu diciptakan Allah SWT menurut ukurannya masing-masing. Hal ini juga terdapat pada biji delima hitam bahwa kandung hormon endogennya berbeda-beda antara bagian ujung dan akar. Berdasarkan hasil pemotongan biji delima hitam dan penambahan BA konsentrasi berbeda menyebabkan respon pertumbuhan yang berbeda. penambahan BA berbagai konsentrasi pada ujung biji menyebabkan terinduksinya kalus dari kotiledon. Penambahan BA pada pemotongan pangkal biji menghasilkan menghasilkan pertumbuhan kotiledon, hipokotil, akar primer dan pertumbuhan tunas.

Allah SWT memberikan segala tanda-tanda di alam sebagai pembelajaran kepada manusia dengan tujuan agar manusia lebih beriman dan bertaqwa kepada Allah SWT. Hal tersebut dijelaskan dalam Al-Qur'an surat Al-Anfal [8] ayat 2 yaitu:

إِنَّمَا الْمُؤْمِنُونَ الَّذِينَ إِذَا ذُكِرَ اللَّهُ وَجِلَّتْ قُلُوبُهُمْ وَإِذَا تُلِيَتْ عَلَيْهِمْ

ءَايَاتُهُ زَادَتْهُمْ إِيمَانًا وَعَلَىٰ رَبِّهِمْ يَتَوَكَّلُونَ ﴿٢﴾

Artinya: "Sesungguhnya orang-orang yang beriman[594] ialah mereka yang bila disebut nama Allah[595] gemetarlah hati mereka, dan apabila dibacakan ayat-ayatnya bertambahlah iman mereka (karenanya), dan hanya kepada Tuhanlah mereka bertawakkal." Q.S Al-Anfal [8]: 2

Tafsir Ibnu Katsir (2004) menjelaskan bahwa tanda-tanda orang yang beriman adalah bergetar hatinya ketika mendengar nama Allah SWT. Dari mendengar nama tersebut, hati orang-orang beriman akan cenderung melaksanakan kebaikan dikarenakan ketaqwaan mereka kepada Allah SWT. Salah satu upaya meningkatkan ketaqwaan adalah dengan senantiasa menjaga segala ciptaan Allah SWT. Hal tersebut dikarenakan orang-orang yang bertaqwa sadar bahwa segala ciptaan Allah SWT merupakan titipan kepada manusia sebagai *khalifah*.

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً ۗ قَالُوا أَتَجْعَلُ

فِيهَا مَنْ يَفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَاءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ

قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ ﴿٣٠﴾

Artinya: "Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para malaikat;" Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang khalifah dimuka bumi." Mereka berkata;"Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal Kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan menyucikan Engkau?" Tuhan berfirman;"Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak Kamu ketahui". (Q.S. Al Baqarah [01]:30)

Menurut tafsir Ibnu Katsir (2004) tugas manusia sebagai *khalifah* menurut Al-Qur'an surat Al Baqarah [01] ayat 30 yaitu manusia dijadikan sebagai *khalifah* di bumi selain sebagai perwakilan Allah SWT dalam menjaga serta melestarikan ciptaan-Nya, juga sebagai perantara antara makhluk lainnya. Sebagai perantara, manusia berperan dalam *hablumminallah* yaitu hubungan antara manusia dengan Allah SWT, *habbluminannas* yaitu hubungan antara manusia

dengan manusia lain, dan juga *hablumninal'alam* yaitu hubunga antara manusia dengan alam sekitar.

Hikmah penelitian yang dapat diambil oleh masyarakat umum adalah mengembalikan kesadaran masyarakat akan pentingnya manfaat delima hitam. Dengan adanya edukasi dan pengetahuan akan pentingnya manfaat delima hitam, masyarakat akan senantiasa beralih dari obat-obatan sintesis menjadi obat-obatan herbal alami. Karena sesungguhnya, manfaat delima hitam dalam pengobatan tidak memiliki efek samping dibandingkan obat-obatan sintesis. Penggunaan buah delima selain sebagai obat, juga merupakan suatu berkah dari Allah SWT. karena selain beranfaat, buah delima juga lezat untuk dikonsumsi. Kemudian dengan adanya penelitian tentang biji delima hitam, maka dapat dihasilkan dapat duhasilkan bibit delima hitam berkualitas melalui kultur *in vitro*. Sehingga, masyarakat dapat dengan mudah menanam delima hitam di pekarangan dan mendapatkan manfaat alami dari tanaman delima sesuai tuntunan agama Islam.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian yang dilakukan adalah:

1. Penambahan BA berpengaruh terhadap respon morfogenesis biji delima hitam (*Punica granatum L.*).
2. BA berpengaruh terhadap respon pertumbuhan ujung biji delima hitam (*Punica granatum L.*) secara *in vitro* dengan terinduksinya kalus dari kotiledon.
3. BA berpengaruh terhadap respon pertumbuhan pangkal biji delima hitam (*Punica granatum L.*) secara *in vitro* dengan tumbuhnya kotiledon, hipokotil, akar primer dan tunas.

5.2 Saran

Saran dari penelitian yang dilakukan antara lain

1. Diperlukan penelitian lanjutan tentang letak embrio pada biji delima hitam.
2. Diperlukan penelitian lanjutan tentang ekstraksi kandungan fitohormon biji delima hitam.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Zaenal. 1983. *Dasar-dasar pengetahuan tentang zat pengatur tumbuh*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Aini, Masyhadil. 2018. *Pengaruh skarifikasi kimia dengan H₂SO₄ dan GA₃ terhadap perkecambahan dan pertumbuhan tanaman delima hitam (Punica granatum L.)*. Skripsi. Malang : Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Akbarpour V, Hemmati K, Sharifani M. 2009. Physical and chemical properties of pomegranate, fruit in maturation stage. *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, 6:411-416
- Akbas, F., Cigdem, I., dan Sureya, N. 2009. Callus induction and plant regeneration from different explant of *Actinidia deliciosa*. *Appl. Biochem Biotechnol*, 158:470-475
- Al-Qurtubi. 2009. *Tafsir al-qurthubi*. Jakarta : Pustaka Azzam.
- Al-Said FA, Opara LU, Al-Yahyai RA. Physical, 2009. Chemical and textural quality attributes of pomegranate cultivars (*Punica granatum L.*) cultivars in Eastern Mediterranean region of Turkey. *Afr J Biotechnol*, 7:1294-1301
- Amin, G.R.1991. *Iranian Traditional Medicinal Plants*. Tehran, Iran: Farhang Publications
- AOSA, Association of Official Seed Analysis. 2000. *Rules for testing seed*. Bozeman: MT.
- APG II. 2003. An update oh the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot. J. Linn. Soc*, 141 : 399-436
- Audus, L.J. 1959. *Plant growth substance*. New York: Interscience publisher. In: Robert M.D.(Ed).1975. *Plant physiology. Third edition*. D. Van Nostrand Co.
- Auer, C.A., J.D. Cohem, M. Lalue, dan T.D. Cooke. 1992. Comparison of benzyladenine metanolism in two *Petunia hybrida* lines differing in shoot organogenesis. *Plant Physiol*, 98: 1035-1041
- Aviram, M., Dornfeld, L., dan Kaplan, M.2000. Pomegranate juice flavonoids inhibit low-density lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases: studies in atherosclerotic mice and in humans. *Drugs Exp Clin Res*, 28:49-62
- Aviram, M., Dornfeld, L., dan Rosenblat, M. 2000. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL,

- and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Clin Nutr*, 71:1062-1076
- Bailly, A., Sovero, V., dan Geisler, M. 2006. The twisted dwarf's ABC: how immunophilins regulate auxin transport. *Plant Signal Behav*, 1 : 80-277
- Barrat, N. M., Dong, W., Gage, D.A., Magnus, V., dan Town, C.D. 1999. Metabolism of exogenous auxin by *Arabidopsis thaliana* : identification of the conjugate N α -(indol-3-ylacetyl)-glutamine and initiation of a mutant screen. *Plant Physiol*, 105:207-217
- Benkova` E, Michniewicz M, Sauer M, Teichmann T, Seifertova` D, Ju`rgens G, Friml J. 2003. Local, effluxdependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. *Cell*, 115: 591–602
- Bennett MJ, Marchant A, Green HG, May ST, Ward SP, Millner PA, Walker AR, Schulz B, Feldmann KA. 1996. Arabidopsis AUX1 gene: a permease-like regulator of root gravitropism. *Science*, 273: 948–950
- Birnbaum K, Jung JW, Wang JY, Lambert GM, Hirst JA, Galbraith DW, Benfey PN. 2005. Cell type-specific expression profiling in plants via cell sorting of protoplasts from fluorescent reporter lines. *Nat Methods*, 2: 615–619
- Brady SM, Orlando DA, Lee JY, Wang JY, Koch J, Dinneny JR, Mace D, Ohler U, Benfey PN. 2007. A high-resolution root spatiotemporal map reveals dominant expression patterns. *Science*, 318: 801–806
- Campbell, N.A., Reece, J.B., dan Mitchell, L.G. 2002. *Biologi. Jilid 1*. Edisi Kelima. Alih Bahasa: Wasmen. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Centeno, M. L., A. Rodriguez, I. Fitto, dan B. Fernandez. 1996. Relationship between endogenous auxin and cytokinin levels and morphogenic responses in *Actinidia deliciosa* tissue cultures. *Plant Cell Rep*, 16: 58-62
- Centeno, M.L., Rodriguez, A., Albuerne, M.A., Feito, I., dan Fernandez, B. 1997. Uptake, distribution and metabolism of 6-benzyladenine and cytokinin content during callus initiation from *Actinidia deliciosa* tissues. *Journal Plant Physiology*, 152 : 480-486
- Chamail, A. 1998. *Thesis*, Dr. Yashwant Singh Parmar University of Horticulture & Forestry, Solan
- Chandler, J.W. 2008. Review article: cotyledone organogenesis. *Journal of Experimental Botany*, 59 (11):2917-2931
- Chatfield, J. M. dan D. Armstrong. 1986. Regulation of cytokinin oxidase activity in callus tissues of *Phaseolus vulgaris* L. cv. Great Northern. *Plant Physiol*, 80 : 493-499
- Chaudhuri, K., Bhattacharjee, B. 1999. A kinetic study of the oxidation of phenol, o-chlorophenol and catechol by hydrogen peroxide between 298 K and 333

- K: the effect of pH, temperature and ratio of oxidant to substrate. *J Chem Technol Biotechnol*,74:162-168
- Chaugule, R.R., More, T.A.,Patil, R.S., dan Kamble, A.B. 2005. Callus culture for rapid regeneration of pomegranate. *J. Maharashtra Agric. Univ*, 30:85-86
- Cheng Y, Dai X, Zhao Y. 2007. Auxin synthesized by the YUCCA flavin monooxygenases is essential for embryogenesis and leaf formation in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 19: 2430–2439
- Christie, J.M. dan Murphy, A.S. 2013. Shoot phototropisme in higher plants: new light throught old concepts. *Am J Bot*, 100 :35-46
- Dahlgren, R., dan Thorne, R.F. 1984. The orders Myrtales: circumscription, variation, and relationship. *Ann. Missouri Bot. Gard*, 71 : 633-669
- Damiano, C., Padro, M.D.A., Frattarelli, A.2008. propagation and establishment *in vitro* of myrtle (*Myrtus communis* L.), pomegranate (*Punica granatum* L.), and mulberry (*Morus alba* L.). *Propag. Ornament. Plants*, 8 :3-8
- Das, P., Tanti, B., dan Borthakur, S.K. 2018. *In vitro* induction and indirect organogenesis of *Brucea mollis* Wall. ex Kurz- a potential medicinal plant northeast India. *South African Journal of Botany, Elsavier*, 119: 230-211
- Davies, P.J. 2004. *Plant hormones. Biosynthesis, signal transduction, action*. Boston, Ma: Kluwer academic.
- Davies, P.J. 2010. *The plant hromones: their nature, occurence, and function*. In: Davies, P.J. (Ed). *The plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action. 3rd*. Dordrect: Springer Netherlands
- Dharmasiri N, Dharmasiri S, Weijers D, Lechner E, Yamada M, Hobbie L, Ehrismann JS, Ju`rgens G, Estelle M. 2005. Plant development is regulated by a family of auxin receptor F box proteins. *Developmental Cell*, 9: 109–119
- Dipak, G., Patel, A., Chakraborty, M., Kamath, J.V. 2012. Phytochemical and pharmacological profile of *Punica granatum*: an overview. *International Research Journal of Pharmacy*, 3 (2) : 65-68
- Dodds, Jhon H dan Lorin W.R. 1993. *Percobaan kultur jaringan tanaman ; alih bahasa oleh Prof. Zulkarnain*. Jambi: Fak. Pertanian Universitas Jambi.
- Dolan L, Janmaat K, Willemsen V, Linstead P, Poethig S, Roberts K, Scheres B. 1993. Cellular-organization of the Arabidopsis thaliana root. *Development*, 119: 71–84.
- Efferth, Thomas. 2019. Biotechnology application of plant callus cultures. *Engineering, Elsavier*, 5: 50-59
- Eiji, Hirasasa. 1989. Auxin induce- amylase activity in pea cotyledons. *Plant Physiology*, 91 (20): 484-486

- Eliasson L. 1972. Translocation of shoot-applied indolylacetic acid into the roots of *Populus tremula*. *Physiologia Plantarum*, 27: 412–416
- Elliott, G.1999. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technol*, 53:46-48.
- Feito, I., A. Rodriguez, M. L. Centeno, R. Sanchez-Tames, dan B. Fernandez. 1994. Effect of the physical nature of the culture medium on the metabolism of benzyladenine and endogenous cytokinins in *Actinidia deliciosa* tissues cultured in vitro. *Physiol. Plant*, 91:449-453
- Feito, I., A. Rodriguez, M. L. Centeno, R. Sanchez-Tames, dan B. Fernandez. 1995. Effect of applied benzyladenine on endogenous cytokinin content during the early stages of bud development of kiwifruit. *Physiol. Plant*, 95: 241-246
- Friml J, Vieten A, Sauer M, Weijers D, Schwarz H, Hamann T, Offringa R, Jürgens G. 2003. Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of *Arabidopsis*. *Nature*, 426:147–153
- Gaspar, T. 1996. Plant Hormone and Plant Growth Regulator in Plant Tissue Culture. *In vitro Cell Dev. Biol-Plant*. 32 (1)
- Geisher, M. dan Murphy, A.S.2006. the ABC of auxin transport: the role of p0glycoproteins in plant development. *FEBS lett*, 580:102-1094
- George, E.F dan P.D. Sherington. 1984. *Plant propagation by tissue culture hand book and directory of commercial laboratorious*. England : Exegenetics Ltd.
- Gil, M., Barberan, F., Pierce, B., Holcroft, D., dan Kader, A.2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J Agric Food Chem*, 48: 4581-4589
- Gil, M., Tomas, B.2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J Agric Food Chem*, 48:4581-4589
- Granatek, C.H. dan Cockerline, A.W. 1978. Callus formation versus differentiation of cultured arley emryos: hormonal and osmotic interactions. *In vitro*, 14(2): 7-212
- Grones, P. dan Friml, J. 2015. Auxin trnasporters and binding protein at aglance. *J Cell Sci*, 128: 1-7
- Hansen, E. E., F. Meins Jr., And R. Aba. 1987. Hormonal regulation of zeatin-riboside accumulation by cultured tobacco cells. *Planta*, 172 :520-525
- Heisler M, Ohno C, Das P, Sieber P, Reddy GV, Long JA, Meyerowitz E. 2005. Patterns of auxin transport and gene expression during primordium development revealed by live imaging of the *Arabidopsis* inflorescence meristem. *Current Biology*, 15:1899–1911

- Heylen, Ch. dan J. E. Vendrig. 1991. Further studies on the effects of different auxins and cytokinins on flower bud formation in thin cell layers of *Nicotiana tabacum*: The effects of zeatin riboside, dihydrozeatin and dihydrozeatin riboside. *Physiol. Plant.* 83: 574- 577
- Hirose, N., Takei, K., Kuroha, T., Kamada-Nobusada, T., Hayasahi, H., Sakakibara, H. 2008. Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation. *J Exp Bot*, 59: 75-83
- Ibnu, Katsir. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir Surat Asy-Syuu'ara*. Bogor: Pustaka Imam Asy- Syafi'i
- Ibnu Katsir. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Ikeuchi, M., Jeiko, S., dan Akira, I. 2013. Riview plant callus: mechanisms of induction and repression. *The Plant Cell* : 1-15
- Ishida T, Kurata T, Okada K, Wada T. 2008. A genetic regulatory network in the development of trichomes and root hairs. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 365–386
- Jafri, M., Aslam, M., Javed, K., dan Singh, S. 2000. Effect of *Punica granatum* L (flowers) on blood glucose level in normal and alloxan-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 70:309-314
- Jaidka, K., dan Mehra, P.M. 1986. Morphogenesis in *Punica granatum* (pomegranate). *Can. J. Bot*, 64: 1644-1653
- Jamwal, Komal, Sutaja, B., Sunil, p. 2017. Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, Elsevier*: 1-13
- Jia, Y., Qi-Xiang, Z., Hui-Tang, P., Shi-Qin, L., Ling-Xia, S. 2014. Callus induction and haploid plant regeneration from baby primrose (*Primula forbesii* Frach.) anther culture. *Scientia Horticulturae, Elsevier*, 176: 273-281
- Jiménez, V.M. 2005. Involvement of plant hormones and plant growth regulatorson in vitro somatic embriogenesis. *Plant Growth Regul*, 47: 91–110
- Jogn, A., Schramm, D., Janice, F., dan Luke, L.2003. Effects of flavonoid-rich beverages on prostacyclin synthesis in humans and human aortic endothelial cells: association with ex vivo platelet function. *J. Med. Food*, 6:301-308
- Jonsson H, Heisler MG, Shapiro BE, Meyerowitz EM, Mjolsness E. 2006. An auxin-driven polarized transport model for phyllotaxis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103: 1633–1638
- Jurenka, J. 2008. Therapeutic application of pomgranate. *Alternative Medicine Review*, 13 (2): 345-354
- Kamil. 1979. *Teknologi Benih*. Padang : Angkasa Raya.

- Kaminek, M. And D. Armstrong. 1990. Genotypic variation in cytokinin oxidase from phaseolus callus culture. *Plant Physiol.* 93:1530-1538
- Kanwar, K., Joseph, J., Deepika, R. 2010. Comparison of *in vitro* regeneration pathways in *Punica granatum* L. *Plant Cell Tissues Org. Cult*, 100: 199-207
- Kementrian Agama RI. 2019. Tumbuhan: dalam perspektif Al Qur'an dan sains. Jakarta : Lanjanah Pentashihan Mushaf Al Qur'an.
- Kiranmai, C., Annas, V., Pullaiah, T. 2015. Somatic embriogenesis and indirect organogenesis of *Caralluma pauciflora* Wight (Apocynaceae)-an endemic and rare plant. *Indian Journal of Biotechnology*, 14: 411-415
- Kramer Eric, M. dan Ethan, M. 2015. Aukxin metabolism rates and implication for plant development. *Hypotesis and Theory*, 6(150): 1-8
- Kramer, E. M., Rutschow, H. L., dan Mabie, S.S. 2011. auxV: a database of auxin transport velocities. *Trends Plant Sci*, 16: 461-463
- Kramer, E.M., Lewandowski, M., Beri, S., Bernard, J., Borkowski, M., Borkowski, M.H. 2008. Auxin gradients are associated with polarity changes in trees. *Science*, 320 (1610)
- Krikorian, A.D. 1995. *Hormones in tissue culture and micropagation*. In Davies, P.J. (ed): *Plant hormones physiology, biochemistry and molecular biology*, 774-778. London: Kluwer Academic Publisher.
- Krikorian, A.D. 1995. In P.J. Davies (Ed), *Plant hormones: Physiology, biochemistry and molecular biology*. London : Kluwer.
- Kudo, T., Kiba, T., Sakakibara, H. 2010. Metabolism and long-distance translocation of cytokinins, *J Integr Plant Biol*, 52 : 53-60
- Kuiper, D., P. J. E. Kuiper, H.Lambers, J. Schult, dan M. Staal. 1989. Cytokinin concentration in relation to mineral nutrition and benzyladenine treatment in *Plantago major* ssp. *pkiosperma*. *Physiol. Plant*, 75: 511-517
- Lansky, E., Shubert, S., dan Neeman, I.1997. Pharmacological and therapeutic of pomegranate. *Ciham Options Mediterran*, 5:231-235
- Laplaze L, Parizot B, Baker A, Ricaud L, Martiniere A, Auguy F, Franche C, Nussaume L, Bogusz D, Haseloff J. 2005. GAL4-GFP enhancer trap lines for genetic manipulation of lateral root development in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot*, 56: 2433–2442
- Lawrence, G.H.M. 1951. *Taxonomy of vascular plants*. New York : Macmillan and Co.
- Lee, S.T., Huang, W.L., 2013. Cytokinin, auxin and abscisic acid affects sucrose metabolism conduce to de novo shoot organogenesis in rice (*Oryza sativa* L.) callus. *Botanical Studies*, 54: 5–10

- Leshem, B., R Ronen, E. Soudry, S. Lurie, And S. Gepstein. 1994. Cytokinin at a large range of concentrations determines rates of polypeptide metabolism and regeneration in cultured melon cotyledons. *J. Plant Physiol.* 143:330-336
- Ling, A.P.K., Tan, K.P., dan Hussein, S. 2013. Comparative effects of plant growth regulators on leaf and stem explant of *Labisia pumila* var. Alata. *Journal Biomedicine & Biotechnology*, 14 (7) : 621-631
- Ljung K, Bhalerao RP, Sandberg G. 2001. Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in Arabidopsis during vegetative growth. *Plant J*, 28: 465–474
- Maldonado, F.E.M., Diego, M.L., dan Stanislav, M. 2013. Sugar apple (*Annona squamosa* L., annonaceae) seed germination: morphological and anatomical changes. *Agronomia Colombiana*, 31(2): 176-183
- Martinez, J.J., Melgarejo, P., Hernandez, F., Salazar, D.M., Martinez, R. 2006. Seed characterisation of five new pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties. *Scientia Horticulturae, Elsevier*, 110 : 241-246
- Mathur, S., Shekhawat, G.S., 2013. Establishment and characterization of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) cell suspension culture: an in vitro approach for production of stevioside. *Acta Physiologica Plantarum*, 35:931–939
- McGaw, B. 1995. A: Cytokinin biosynthesis and metabolism. In: Davies, P. J. (ed.): *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, 98-117. London : Kluwer Academic Publishers.
- Melgarejo, P. dan Arte, F. 2000. Total lipid content and fatty acid composition of oilseed from lesser known sweet pomegranate clones. *J. Sci. Food Agric*, 80:1452-1454
- Melgarejo, P., Marti'nez, R, 1992. *El granado*. Madrid : Ediciones Mundi-prensa
- Melgarejo, P., Salazar, D.M., 2002. *Tratado de fruticultura para zonas a'ridas, vol. II*. Madrid : Ediciones Mundi-Prensa
- Mercola B. 2015. What are pomegranates good for? <http://articles.mercola.com/sites/articles/archive/2014/05/10/pomegranates.aspx>. Diakses 13 November 2019 pukul 09.56 WIB
- Minocha, S.C., 1987. *Plant Growth Regulators and Morphogenesis in Cell and Tissue Culture of Forest Trees*. In: *Cell and Tissue Culture in Forestry*. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publisher.
- Monacelu, B., G. Pasqua, F. Capitani, T. Archillati, B. Calzacchi-Onesti, And M. M. Altamura. 1992. Histological analysis of flower and vegetative bud formation in tobacco thin layers cultured under different hormonal treatments. *Cytobios*, 71 :93-103
- Morton, J. 1987. *Pomegranate*. In : Morton, J.F (Ed). *Fruits of warm climate*. Miami : Florida flair books.

- Murashige, T. dan Skoog, F.A.,1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture physial. *Plant*, 15 : 473-497
- Mustafa al-Maragi Ahmad, 1993. *Tafsir al-Maragi*, jld. IV, Beirut: Dar al-Kutub al-Ilmiyyah.
- Naik, S.K., dan Chand, P.K. 2003. Silver nitrate and aminoethoxyvinylglycine promote *in vitro* adventitious shoot regeneration of pomegranate (*Punica granatum* L.). *J. Plant Physiol*, 160 : 421-430
- Naik,S.K., Pattnaik, S., Chand, P.K. 2000. High frequency axillary shoot proliferation and plant regeneration from cotyledonary nodes pomegranate (*Punica granatum* L.). *Sci. Hortic*, 79 : 175-183
- Nambara, E., Marion-Poll, A., 2005. *Abscisic acid biosynthesis and catabolism. Annual Review of Plant Biology*. 56:165–185
- Nath, N., dan Randhawa, G.S. 1959. Classification and description of some varieties of *Punica granatum* L. *Indian J. Hortic*. 16:210-215
- Nitsch, J.P., dan Nitsch, C. 1969. Haploid plants form pollen grains. *Science*, 163: 85-87
- Nhut, D.T., Jaime, A.T., Bui, V.L., dan K.T.T. Van. 2003. *Thin cell layer morphogenesis as a powerful tool in ornamental plant micropagation and biotechnology*. Orsay Codex:Kluwer Academic Publisher.
- Öktüren, F., and Sönmez, S. 2005. Bitki Besin Maddeleri ve Bazı Bitki Büyüme Düzenleyicileri (hormonlar) Arasındaki İlişkiler. *Derim. Batı Akd. Tar. Arş. Ens*, 22 (2): 20-30.
- Osman, N.I., Norrizah, J.S., dan Asmah, A. 2016. Efefct of variation in culture media and hormonal treathments upon callus induction potential in endosperm explant of *Barringtonia racemosa* L. *Asian pacific Journal of Tropical Biomedicine, Elsavier*, 6(2): 143-147
- Overvoorde, P., Hidehiro, F., dan Tom, B. 2015. Auxin control of root development. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1-15
- Ozkan, M.2002. Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid. *Food Chem*, 78:499-504
- Parashar A. 2010. Lipid contents and fatty acids composition of seed oil from twenty five pomegranates varieties grown in India. *Adv. J. Food Sci. Technol*, 2:12–15
- Park, Jiyong, Youngsook L., Enrico, M., dan Markus, G. 2017. Plant hormone transporters: what we know and what we would like to know. *BMC Biology*, 15(93) : 1-15

- Peeters, A. J. M., W. Gerards, G. W. M. Barendse, And G. J. Wullems. 1991. In vitro flower bud formation in tobacco: interaction of hormones. *Plant Physio.* 97 :402-408
- Peret B, De Rybel B, Casimiro I, Benkova E, Swarup R, Laplaze L, Beeckman T, Bennett MJ. 2009. Arabidopsis lateral root development: an emerging story. *Trends in Plant Science*, 14: 399–408
- Pérez-Francés, J.F., Valdés, F., Msrtín, R., 1995. Callus induction and culture from explants of *Erysimum scoparium* in a growth regulator-free medium. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 43(3):223-228
- Pitts RJ, Cernac A, Estelle M. 1998. Auxin and ethylene promote root hair elongation in Arabidopsis. *Plant J*, 16:553–560.
- Poyrazog, ılı E., Go ıkmen W., dan Artik, N.2002. Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punica granatum* L.) grown in Turkey. *J Food Compos Anal*, 15:567-575
- Purseglove, J.W. 1968. *Tropical crops: dicotyledons*, vol 2. London : Longmans, Green & Co.Ltd.
- Rahman A, Hosokawa S, Oono Y, Amakawa T, Goto N, TsurumiS. 2002. Auxin and ethylene response interactions during Arabidopsis root hair development dissected by auxin influx modulators. *Plant Physiol*, 130: 1908–1917
- Raj, D., dan Kanwar, K. 2010. *In vitro* regeneration of *Punica granatum* L. plants from different juvenile explants. *J. Fruit Ornament. Plant Res*, 18:5-22
- Rajesh, J.K., Pranay, M., dan Khit, V. 2019. Elucidation of seed dormancy and phytohormones by germination after exogenous foliage whey application. *Journal of Plant Stress Physiology*, 5:8-14
- Rana, T.S., Narzary, D., Ranade, S.A. 2010. Systematics and taxonomic disposition of the genus *Punica* L. In: Chandra, R. (Ed). Pomegranate. *Fruit Veg. Cereal Sci. Biotechnol*, 4 (2): 19-25
- Ray, B.P., Hassan, L., Nasirrudin, K.M.,2011. *In vitro* regeneration of Brinjal (*Solanum melongena* L.). *Bangladesh Journal of Agricultural Research* ,36:397–406
- Reinhardt , D. 2005. Regulation of phyllotaxis. *International Journal of Developmental Biology*, 49:539–546
- Reinhardt D, Pesce ER, Steiger P, Mandel T, Baltensperger K, Bennett M, Traas J, Friml J, Kuhlemeier C. 2003. Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport. *Nature* , 426:55–260
- Risqi, A.K. 2019. Induksi tunas dari eksplan biji delima hitam (*Punica granatum* L.) menggunakan zat pengatur tumbuh BA (*benzyl adenine*) secara *in vitro*

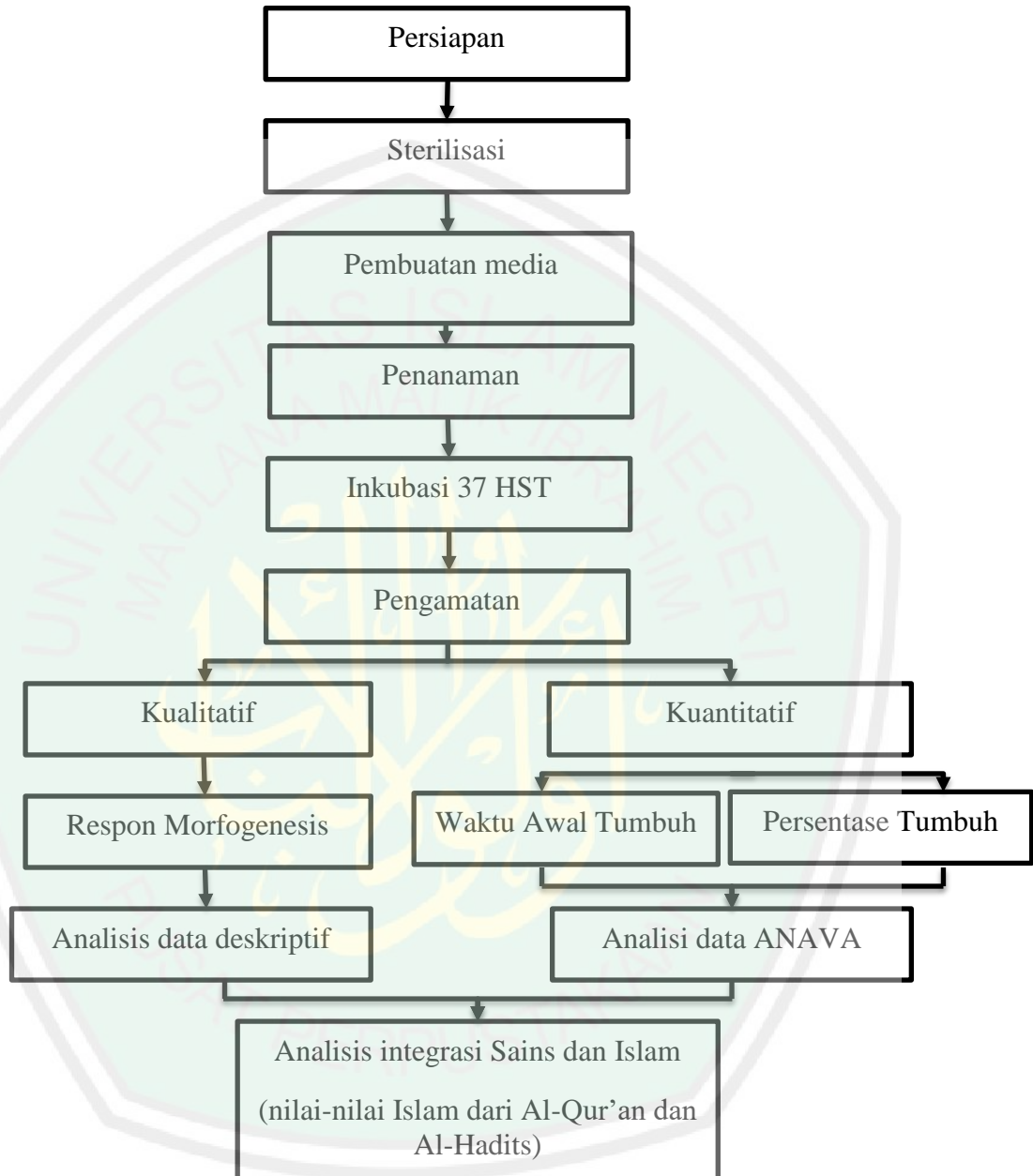
- dengan teknik TCL (*Thin Cell layer*). *Skripsi*. Malang: Biologi Universitas Maulana Malik Ibrahim
- Rohmah, Miftahur. 2018. Induksi kalus embriogenik delima hitam (*Punica granatum* L. var) menggunakan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP secara *in vitro*. *Skripsi*. Malang: Biologi Universitas Maulana Malik Ibrahim
- Sakakibara, H. *Cytokinin biosynthesis and metabolism*. 2010. In : Davies, P.J, (Ed). *The plant hormones biosynthesis, signal transduction, action*. 3rd. Dordrecht : Springer Netherland
- Salah, A., Maiman, A., Dilshad, A. 2002. Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit maturation. *Food Chem*, 76:437-441
- Salehi, M., Hosseini, B., Jabbarzadeh, Z., 2014. High frequency in vitro plantlet regeneration from apical bud as a novel explants of *Carum copticum* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4: 424–428
- Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi tumbuhan*. Penerjemah : Lukman, D.R dan Sumaryono. Bandung : ITB Press.
- Sauer, M., Balla, J., Luschning, C., Wisniewka, J., Reinohl, V., Friml, J. 2006. Canalization of auxin flow by aux/IAA-ARF-dependent feedback regulation of PIN polarity. *Genes Dev*, 20: 2902-2911
- Schubert, S., Lansky, E., dan Neeman, I. 1999. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *J Ethnopharmacol*, 66:11-17.
- Sezgin, M. dan Mustafa, K. 2018. Phytohormones. *Journal of Science and Technology*, 8(1): 35-39
- Shahr, Babaki B. 1997. *Genetic diversity of Pomegranate genotypes in Iran*. Karaj, Iran: Agriculture Education Publication.
- Shaygannia, E., dan Bahmani, M. 2016. A rivew study *Punica granatum* L. *Journa of Evidence Based Complementary & Alternative Medicine*, 21(3) : 221-227
- Shihab, Quraish. 2002. *Tafsir al mishbah 1*. Hal 138-149
- Singh, P., Murthy, N., dan Jayaprakasha, K. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts using in vitro models. *J Agric Food Chem*, 50 :81-86
- Singh, S.K., dan Khawale, R.N. 2006. *Plantlet regeneration from nodal segments of pomegranate (Punica granatum L.) cv. Jyoti*. In : Kumar, A., Roy, S., Sopory, S.K. (Eds.) *Plant biotechnology and its application in tissue culture*. New Delhi: International Pvt. Ltd.

- Street, H.E (e.d). 1972. *Plant tissue and cell culture. Botanical Monographs. II:* 258-260.
- Sudewi, Sri dan Sri Mardikani Nugraha. 2017. Sejarah farmasi islam dan hasil karya tokoh-tokohnya. *Jurnal AQLAM, Journal of Islam and Plurality*, 2(1)
- Sugiyama, M. 1999. *Current opinion in plant biology*, 2:61-64
- Swarup R, Friml J, Marchant A, Ljung K, Sandberg G, Palme K, Bennett M. 2001. Localization of the auxin permease AUX1 suggests two functionally distinct hormone transport pathways operate in the Arabidopsis root apex. *Genes Dev*, 15: 2648–2653
- Teale, W.D., Paponov, I.A., Palme, K., 2006. Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 7 (11) :847–859
- Teixeria, J.A. da Silva, Tikam, S.R., Diganta, N., Nidhi, V., Deodas, T.M., Shirish, A.R. 2013. Pomegranate biology and biotechnology: a riview. *Science Horticulturae, Elsavier*, 160: 85-107
- Teixeira, Da Silva, J., Maria, M.A., dan Judit, D. 2015. The untapped potential of plant thin cell layers. *Journal of Horticultural Research I*, 23(2): 127-131
- The Angiosperm Phyogeny Group (APG) II. 2002. An update of the angiosperm phylogeny group Classification for the orders and families of Flowering plants: apg II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141 : 399-436
- Tjitrosoepomo, G. 1985. Morfologi tumbuhan. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada Press.
- Tsurumi S, Wada S. 1980. Transport of shoot- and cotyledon- applied indole-3-acetic acid to Vicia faba root. *Plant Cell Physiol*, 21: 803–816
- Van Der Krieken, W. M., A F. Croes, M. J. M. Smulders, dan G. J. Wullems. 1990. Cytokinins and bud formation in vitro in tobacco. Role of the metabolites. *Plant Physiol*, 92: 565-569
- Vankova, R, K-Ch. Hsiao, C. H. Bornman, And A Gaudinova. 1991. Effect of synthetic cytokinins on levels of endogenous cytokinins and respiration patterns of *Beta vulgaris* cells in suspension. *J. Plant Growth Regul.* 10 :179-199
- Van, K.T.T. 2003. *Thin cell layer concept*. Orsay Cedex : Kluwer academic publisher.
- Vanneste S, Friml J. 2009. Auxin: a trigger for change in plant development. *Cell*, 136: 1005–1016
- Vanneste, S.F. 2009. Auxin: a trigger for change in plant development. *Cell*, 136: 16-1005

- Verbelen, J.-P., D. Lambrechts, D. Stickens, And W. Tao. 1992. Controlling cellular development in a single cell system of *Nicotiana*. *Int. J. Dev. Bio.* 36, 67-72
- Von Aderkas P. 2002. In vitro phenotypic variation in larch cotyledon number. *International Journal of Plant Sciences*, 163:301–307
- Wahab, S., Fiki, N., Mostafa, S, dan Hassan, A.1998. Characterization of certain steroid hormones in *Punica granatum* L. seeds. *Bull Faculty Pharm Cairo Univ*, 36:11-15
- Wareing, P.F. dan Philips, I.D.J. 1970. *The control of growth and differentiation in plants*. New york : Pergamon press.
- Watson, L., and Dallwitz, M.J. 1992.*The families of Flowering Plants:descriptions, illustrations, identification, and information retrieval*. Version: 2nd November 2019.
- Wilson, J. W., Walker, E. S., dan Wilson, P.M.W. 1998. The role of basipetal auxin transport in the positional control of abscission sites induced in *Impatiens sultani* explant. *Ann. Bot*, 62: 487-495
- Woodward AW, Bartel B. 2005. Auxin: regulation, action, and interaction. *Ann Bot*, 95: 707–735
- Xu, Z., Um, Y.C., Kim, C.H., Lu, G., Guo, D.P., Liu, H.L., Bah, A.A., Mao, A., 2008. Effect of plant growth regulators, temperature and sucrose on shoot proliferation from the stem disc of Chinese jiaotou (*Allium chinense*)and in vitro bulblet formation. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30: 521–528
- Yang, Z.H., dan Ludders, P. 1993. Organogenesis of *Punica granatum* L. var. Nana. *Angew. Bot*, 67(5-6) : 151-156
- Zamani, Z.1990. *Characteristics of Pomegranate Cultivars Grown in Saveh of Iran* Tehran, Iran: University of Tehran.
- Zazamilova, E., Murphy, A.S. Yang, H., Hoyerova, K., dan Hosek, P. 2010. Auxin transporters- why so many? *Cold Spring Hrb. Perspect. Biol*, 5 : 334-338
- Zeevart, J.A.D. dan Creelman, R.A. 1988. Metabolism and physiology of abscisic acid. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 39 : 73-439
- Zhao, J., Davis, L.C., dan Verpoorte, R. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnologu advances*, 23 (4): 283-333
- Zulkarnain. 2009. *Kultur jaringan tanaman solusi perbanyak tanaman budidaya*. Jakarta : Bumi aksara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Desain penelitian



Lampiran 2. Tabel Data Hasil Pengamatan Pertumbuhan Kalus Ujung Biji

a. Hari Muncul Kalus

No	Perlakuan		Ulangan				Rerata (hari)
	Pemotongan	BA (ppm)	1	2	3	4	
1		0	-	-	-	-	-
2		0,5	15,00	14,67	14,67	13,33	14,42
3	U	1	12,00	12,33	10,75	10,50	11,40
4		1,5	10,00	12,50	11,75	11,00	11,31
5		2	12,25	13,00	12,00	13,33	12,65
6		2,5	14,00	12,25	12,00	12,50	12,69

b. Persentase Kalus

No	Perlakuan		Ulangan				Rerata (%)
	Pemotongan	BA (ppm)	1	2	3	4	
1		0	-	-	-	-	-
2		0,5	25	75	75	75	62,5
3	U	1	75	75	100	100	87,5
4		1,5	75	50	100	75	75
5		2	100	75	75	75	81,25
6		2,5	75	100	100	100	93,75

c. Berat total Kalus

No	Perlakuan		Ulangan				Total	Rerata (mg)
	Pemotongan	BA (ppm)	1	2	3	4		
1		0	-	-	-	-	-	
2		0,5	60	250	310	260	880	352
3	U	1	250	230	250	770	1500	600
4		1,5	720	780	710	340	2550	1020
5		2	560	270	330	350	1510	604
6		2,5	160	450	310	380	1300	520

Lampiran 3. Tabel Data Hasil Pengamatan Pertumbuhan Pangkal Biji

a. Hari muncul tunas

No	Perlakuan		Ulangan				Rerata (hari)
	Pemotongan	BA (ppm)	1	2	3	4	
1		0	15,00	20,33	20,00	15,33	17,67
2		0,5	22,33	21,00	15,33	19,00	19,42
3	P	1	21,00	25,00	25,00	21,00	23,00
4		1,5	21,50	20,00	17,33	25,00	20,96
5		2	10,33	17,50	18,00	13,67	14,88
6		2,5	15,00	23,00	17,00	18,50	18,38

b. Persentase tunas

No	Perlakuan		Ulangan				Rerata (%)
	Pemotongan	BA (ppm)	1	2	3	4	
1		0	75	75	25	75	62,5
2		0,5	75	50	75	25	56,25
3	P	1	50	75	25	50	50
4		1,5	50	25	75	100	62,5
5		2	75	100	50	75	75
6		2,5	25	50	50	50	43,75

c. Persentase kotiledon

No	Perlakuan		Ulangan				Rerata (%)
	Pemotongan	BA (ppm)	1	2	3	4	
1		0	75.00	100.00	75.00	100.00	87.50
2		0,5	100.00	75.00	100.00	100.00	93.75
3	P	1	75.00	100.00	50.00	75.00	75.00
4		1,5	100.00	75.00	75.00	100.00	87.50
5		2	100.00	100.00	75.00	100.00	93.75
6		2,5	100.00	75.00	75.00	75.00	81.25

d. Persentase hipokotil

No	Perlakuan		Ulangan				Rerata (%)
	Pemotongan	BA (ppm)	1	2	3	4	
1		0	75.00	75.00	25.00	100.00	68.75
2		0,5	75.00	75.00	100.00	75.00	81.25
3	P	1	50.00	100.00	50.00	50.00	62.50
4		1,5	50.00	25.00	75.00	75.00	56.25
5		2	75.00	100.00	25.00	100.00	75.00
6		2,5	100.00	75.00	75.00	75.00	81.25

e. Persentase akar

No	Perlakuan		Ulangan				Rerata (%)
	Pemotongan	BA (ppm)	1	2	3	4	
1		0	25.00	75.00	25.00	100.00	56.25
2		0,5	75.00	50.00	75.00	25.00	56.25
3	P	1	50.00	75.00	0.00	50.00	43.75
4		1,5	50.00	25.00	75.00	25.00	43.75
5		2	75.00	100.00	0.00	75.00	62.50
6		2,5	75.00	75.00	50.00	75.00	68.75

Lampiran 4. Hasil Analisis Statistika

1. Pemotongan Ujung Biji Delima Hitam

Variabel	F hitung	F tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	8,579*	2,77
Persentase Tumbuh Kalus	18,160*	2,77
Berat Total Kalus	6,882*	2,77

a. Hari muncul kalus

No	Uji	Signifikasi	Ket
1	Normalitas	0,725	Lanjut uji homogenitas
2	Homogenitas	0,606	Lanjut uji ANAVA
3	ANAVA	0,001	Uji lanjut berdasar KK
4	KK	$= \frac{\sqrt{0,741}}{12,4917} \times 100\% = 6,89\%$	Uji lanjut LSD karena $5\% < KK < 10\%$

ANOVA

HMK

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	25,436	4	6,359	8,579	,001
Within Groups	11,118	15	,741		
Total	36,554	19			

Uji LSD

	0U	0,5U	1U	1,5U	2U	2,5U
0U		*	*	*	*	*
0,5U	*		*	*	*	*
1U	*	*				
1,5U	*	*			*	*
2U	*	*		*		
2,5U	*	*		*		

Konsentrasi	Rerata			
1,5U	11,31	A		
1U	11,39	A	b	
2U	12,65		b	
2,5U	12,69		b	
0,5U	14,41			c
0U	-			

b. Persentase kalus

No	Uji	Signifikasi	Ket
1	Normalitas	0,642	Lanjut uji homogenitas
2	Homogenitas	0,120	Lanjut uji ANAVA
3	ANAVA	0,000	Uji lanjut berdasar KK
4	KK	$= \frac{\sqrt{260,417}}{66,67} \times 100\% = 24,206\%$	Uji lanjut DMRT karena $KK > 10\%$

ANOVA

Persenkalus

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23645,833	5	4729,167	18,160	,000
Within Groups	4687,500	18	260,417		
Total	28333,333	23			

Uji DMRT

Persenkulus

KonsentrasiBA	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a 0U	4	,0000		
0,5U	4		62,5000	
1,5U	4		75,0000	75,0000
2U	4		81,2500	81,2500
1U	4		87,5000	87,5000
2,5U	4			93,7500
Sig.		1,000	,058	,148

c. Berat total kalus

No	Uji	Signifikasi	Ket
1	Normalitas	970	Lanjut uji homogenitas
2	Homogenitas	0,060	Lanjut uji ANAVA
3	ANAVA	0,001	Uji lanjut berdasar KK
4	KK	$= \frac{\sqrt{25519,4}}{322,5} \times 100\%$ $= 49,534\%$	Uji lanjut DMRT karena $KK > 10\%$

ANOVA

BB

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	878100,000	5	175620,000	6,882	,001
Within Groups	459350,000	18	25519,444		
Total	1337450,000	23			

Uji DMRT

BB

KonsentrasiBA	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a 0U	4	,0000		
0,5U	4	220,0000	220,0000	
2,5U	4		325,0000	
1U	4		375,0000	
2U	4		377,5000	
1,5U	4			637,5000
Sig.		,067	,216	1,000

Pemotongan Pangkal Biji Delima Hitam

Variabel	F hitung	F tabel 5%
Hari Muncul Tunas (HMT)	3,259*	2,77
Persentase Tumbuh Tunas	0,890	2,77
Persentase Kotiledon	0,984	2,77
Persentase Hipokotil	0,667	2,77
Persentase Akar	0,432	2,77

a. Hari muncul tunas

No	Uji	Signifikasi	Ket
1	Normalitas	0,441	Lanjut uji homogenitas
2	Homogenitas	0,968	Lanjut uji ANAVA
3	ANAVA	0,029	Uji lanjut berdasar KK
4	KK	$= \frac{\sqrt{9,616}}{19,0486} \times 100\% = 16,279\%$	Uji lanjut DMRT karena $KK > 10\%$

ANOVA

HMT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	156,714	5	31,343	3,259	,029
Within Groups	173,090	18	9,616		
Total	329,804	23			

Uji DMRT

HMT

PerlakuanP	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a 2P	4	14,8750		
0P	4	17,6667	17,6667	
2,5P	4	18,3750	18,3750	18,3750
0,5P	4	19,4167	19,4167	19,4167
1,5P	4		20,9583	20,9583
1P	4			23,0000
Sig.		,072	,184	,067

b. Persentase tunas

No	Uji	Signifikasi	Ket
1	Normalitas	0,982	Lanjut uji homogenitas
2	Homogenitas	0,530	Lanjut uji ANAVA
3	ANAVA	0,508	Berhenti

ANOVA

Persentunas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2395,833	5	479,167	,890	,508
Within Groups	9687,500	18	538,194		
Total	12083,333	23			

c. Persentase kotiledon

No	Uji	Signifikasi	Ket
1	Normalitas	1,456	Lanjut uji homogenitas
2	Homogenitas	0,951	Lanjut uji ANAVA
3	ANAVA	0,454	Berhenti

ANOVA

PK

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1067.708	5	213.542	.984	.454
Within Groups	3906.250	18	217.014		
Total	4973.958	23			

d. Persentase hipokotil

No	Uji	Signifikasi	Ket
1	Normalitas	1,142	Lanjut uji homogenitas
2	Homogenitas	0,496	Lanjut uji ANAVA
3	ANAVA	0,654	Berhenti

ANOVA

PH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2083.333	5	416.667	.667	.654
Within Groups	11250.000	18	625.000		
Total	13333.333	23			

e. Persentase Akar

No	Uji	Signifikasi	Ket
1	Normalitas	0,930	Lanjut uji homogenitas
2	Homogenitas	0,299	Lanjut uji ANAVA
3	ANAVA	0,821	Berhenti

ANOVA

Akar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2005.208	5	401.042	.432	.821
Within Groups	16718.750	18	928.819		
Total	18723.958	23			

Lampiran 5. Perhitungan Larutan Stok Hormon

Stok hormon 100 ppm yang dibuat dalam 100 ml aquades dengan perhitungan:

- a. Larutan stok BA 100 ppm dalam 100 ml

$$\text{Larutan stok BA 100 ppm} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Lampiran 6. Perhitungan Pengambilan Larutan Stok Hormon

Perlakuan Pemberian BAP

- a. Konsentrasi 0,5 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 0,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,25 \text{ ml}$$

- b. Konsentrasi 1 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 1 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1 \text{ ppm} \times 50 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

- c. Konsentrasi 1,5 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 1,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,75 \text{ ml}$$

- d. Konsentrasi 2 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 2 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{2 \text{ ppm} \times 50 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

- e. Konsentrasi 2,5 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 2,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{2,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 1,25 \text{ ml}$$

Lampiran 7. Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat-alat Penelitian



Oven



Autoklaf



LAF



Kulkas



Alat Diseksi



Cawan Petri



Botol Kultur



Bunsen



Rak Inkubasi

b. Bahan-bahan Penelitian



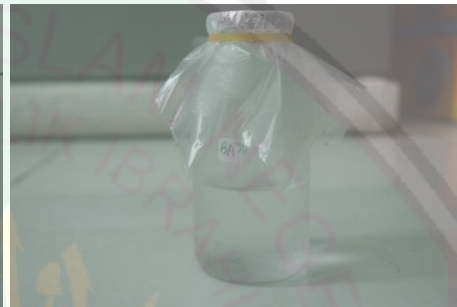
Buah Delima



Media MS



Serbuk Agar dan Gula



Stok BA



Alkohol, Spirtus, Clorox



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@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Muhammad Farid Annas
NIM : 15620088
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil T.A 2019
Pembimbing : Suyono, M.P
Judul Skripsi : Pengaruh 6-Benzyladenine terhadap respon pertumbuhan biji delima hitam (*Punica granatum L.*) menggunakan metode pemotongan secara *in vitro*

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	18-10-2019	Konsultasi judul skripsi	1.
2.	23-10-2019	Konsultasi BAB I,II, dan III	2.
3.	9-12-2019	Konsultasi BAB IV dan V	5.
4.	10-12-2019	Revisi BAB IV dan V	6.
5.	11-12-2019	ACC Skripsi	7.

Malang, 12 Desember 2019

Pembimbing Skripsi,

Suyono, M.P
NIP. 19710622 200912 2 002



Ketua Jurusan,

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



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@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Muhammad Farid Annas
NIM : 15620088
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil T.A 2019
Pembimbing : M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
Judul Skripsi : Pengaruh 6-Benzyladenine terhadap respon pertumbuhan biji delima hitam (*Punica granatum L.*) menggunakan metode pemotongan secara *in vitro*

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	23-10-2019	Konsultasi BAB I dan II	1.
2.	24-10-2019	ACC BAB I dan II	2.
3.	9-12-2019	Konsultasi BAB IV dan V	3.
4.	11-12-2012	ACC Skripsi	4.

Malang, 12 Desember 2019

Pembimbing Agama Skripsi,

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



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