

**INDUKSI TUNAS JERUK JAPANSCHÉ CITROEN (JC) (*Citrus limonia*
Osbeck) PADA BERBAGAI KONSENTRASI 6-Benzylaminopurine (BAP)
DENGAN TEKNIK TCL (*Thin Cells Layer*)**

SKRIPSI

Oleh :

DINAR ALFIDHDHOH

NIM. 15620124



PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2020

**INDUKSI TUNAS JERUK JAPANSCHÉ CITROEN (JC) (*Citrus limonia*
Osbeck) PADA BERBAGAI KONSENTRASI 6-Benzylaminopurine (BAP)
DENGAN TEKNIK TCL (*Thin Cells Layer*)**

SKRIPSI

Oleh :

DINAR ALFIDHDHOH

NIM. 15620124

Diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

untuk Menemenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2020

**INDUKSI TUNAS JERUK JAPANSCHÉ CITROEN (JC) (*Citrus limonia*
Osbeck) PADA BERBAGAI KONSENTRASI 6-Benzylaminopurine (BAP)
DENGAN TEKNIK TCL (*Thin Cells Layer*)**

SKRIPSI

Oleh :

DINAR ALFIDHDHOH

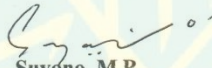
NIM. 15620124

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji

tanggal : 17 Maret 2020

Pembimbing I

Pembimbing II



Suvono, M.P.
NIP.19710622 200 312 1 002



Dr. M. Mukhlis/Fahruddin, M.S.I
NIPT.20142011409

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP.197410182003122002

**INDUKSI TUNAS JERUK JAPANSCHÉ CITROEN (JC) (*Citrus limonia*
Osbeck) PADA BERBAGAI KONSENTRASI 6-Benzylaminopurine (BAP)
DENGAN TEKNIK TCL (*Thin Cells Layer*)**

SKRIPSI

Oleh :

DINAR ALFIDHDHOH

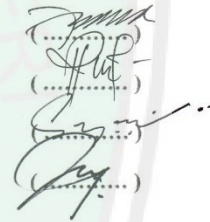
NIM. 15620124

telah dipertahankan

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

Tanggal : 17 Maret 2020

Penguji Utama : Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 2003 12 2 002
Ketua Penguji : Ruri Siti Resmisari, M.Si
NIP. 19790123 20160801 2 063
Sekretaris Penguji : Suyono, M.P
NIP. 19710622 200312 1 002
Anggota Penguji : Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 20142011409



Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 197410182003122002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbi'alamin. Tidak terkira rasa syukur pada Allah SWT atas segala nikmat, rahmat, serta karunia-Nya dan Nabi Muhammad Sallahu'alaihi Wassalam yang telah mengantarkan kita menuju zama Islamiyah dan kita nantikan syafaat-Nya di yaumul qiyamah. Atas terselesaikannya karya ini saya persembahkan kepada Keluarga Besar Bapak Hari Eko Subagyo, Ibu Fitriyah, dan Adik Saya Qurrota A'yun T, terimakasih atas segala do'a dan motivasinya. Maaf Ananda belum bias 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. Aamin.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dinar Alfidhdhoh
NIM : 15620124
Jurusan : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Induksi Tunas Jeruk Japansche Citroen (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) Pada Berbagai Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) Dengan Teknik TCL (*Thin Cells Layer*)

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

Malang, 17 Maret 2020
Yang membuat pernyataan,



Dinar
Dinar Alfidhdhoh
NIM. 15620124

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

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



ABSTRAK

Induksi Tunas Jeruk Japansche Citroen (JC) (*Citrus Limonia Osbeck*) Pada Berbagai Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) Dengan Teknik TCL (*Thin Cells Layer*)

Dinar Alfidhdhoh, Suyono, M. Mukhlis Fahrudin

ABSTRAK

Jeruk merupakan komoditas hortikultura yang banyak diminati oleh masyarakat. Bibit jeruk terdiri dari batang bawah dan batang atas, dimana keduanya memiliki peran yang sangat penting dalam produktivitas jeruk agar menghasilkan kualitas jeruk yang baik. Perbanyakan secara konvensional belum dapat memenuhi permintaan bibit yang terus meningkat. Maka pada penelitian ini dilakukan teknik kultur jaringan untuk menghasilkan bibit jeruk yang seragam, bebas penyakit dan massal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh zat pengatur tumbuh BAP yang digunakan dalam kultur jaringan terhadap induksi tunas dari eksplan kotiledon jeruk Japansche Citroen (JC) (*Citrus Limonia Osbeck*). Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Terdapat satu faktor dalam penelitian ini yaitu konsentrasi BAP meliputi 0 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L, dan 2 mg/L. Analisis hasil pengamatan menggunakan ANAVA dengan $\alpha = 5\%$, kemudian dilanjutkan dengan uji DMRT taraf signifikan 5% apabila terdapat pengaruh nyata terhadap variabel pengamatan. Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh nyata pemberian BAP terhadap induksi tunas jeruk JC. Konsentrasi BAP yang paling optimal untuk induksi tunas berada pada kisaran konsentrasi 1 mg/L. Pengamatan morfologi dan anatomi menunjukkan bahwa pertumbuhan eksplan terdiri atas kalus, calon tunas dan tunas. Calon tunas yang tumbuh berada pada fase globular dan torpedo.

Kata kunci : induksi tunas, BAP, *Citrus limonia Osbeck*

ABSTRACT

The Orange shoot Induction of Japhansce Citroen (JC) (Citrus Limonia Osbeck) on the concentrations of 6-Benzylaminopurine (BAP) by Using TCL (Thin Cell Layer) Technique

Dinar Alfidhdhoh, Suyono, M. Mukhlis Fahrudin

ABSTRACT

Orange/citrus is a horticultural commodity that is used by the public. Citrus seeds consist of under and upper stems both have a very important role in the productivity of oranges to produce good quality oranges. The propagation conventionally has not been able to meet the growing demand for seedlings. So in the research, network culture techniques were carried out to produce uniform, disease-free and mass citrus seedlings. The research aims at determining the influence of BAP growth regulators that is used in network culture against orange shoot Induction of Japhansce Citroen (JC) (Citrus Limonia Osbeck) by Using TCL (Thin Cell Layer) Technique. The research was experimental by using a completely randomized design (CRD) with 5 treatments and 5 replications. There was one factor in the research, BAP concentrations included 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l, and 2 mg/l. Analysis of observations used ANAVA with $\alpha = 5\%$, then proceed with the DMRT test of 5% significance level if there was a real influence on the observational variables. The research results showed a real influence of BAP administration against the induction of JC orange shoots. The most optimal BAP concentration for shoot induction was in the concentration range of 1 mg/L. Morphological and anatomical observations showed that explant growth consisted of callus, potential shoots and shoots. Potential shoots were in the globular and torpedo phases

Keywords: shoot induction, BAP, Citrus limonia Osbeck

نبذة مختصرة

تحريض البراعم لبرتقال جابانج جيتروين (JC) (*Citrus Limonia Osbeck*) في تركيزات 6-بنزيل أمينوبورين (*6-Benzylaminopurine*) (BAP) المختلفة على بتقنية طبقة الخلايا الرفيعة (TCL) (*Thin Cell Layer*)

دينار الفضة، سويونو ، محمد محمص فخر الدين

ملخص البحث

البرتقال هو واحد من سلعات البستنة الذي يطلبه المجتمع كثيرا. تتكون بذور البرتقال من الجذر والعلوي ، وكلاهما دور مهم للغاية في إنتاجية البرتقال لإنتاج جودة البرتقال العالي. انتشار التقليدية لا يمكن ان يلي الطلب على الشتلات المتزايدة. لذلك في هذا البحث، قد قام تقنيات زراعة الأنسجة لإنتاج شتلات البرتقال الموحدة وخالية من الأمراض. يهدف هذا البحث لان يحدد تأثير منظمات النمو BAP المستخدمة في زراعة الأنسجة على تحريض البراعم لبرتقال جابانج جيتروين (JC) (*Citrus Limonia Osbeck*). هذا البحث تجريبي ، باستخدام تصميم العشوائي الكامل (CRD) مع 5 علاجات و 5 تكريرات. هناك عامل واحد في هذا البحث ، تشتمل تركيزات BAP على 0 ملغم/لتر، و 0.5 ملغم/لتر، و 1 ملغم/لتر، و 1.5 ملغم/لتر، و 2 ملغم/لتر. تحليل الملاحظات هو باستخدام ANOVA مع $\alpha = 5\%$ ، واستمر باختبار DMRT من مستوى الأهمية 5%. إذا كان هناك تأثير حقيقي على المتغيرات الرصدية. ودلت النتائج البحث ان تأثير حقيقي لاعطاء BAP على تحريض براعم البرتقال JC إن تركيز BAP الأمثل لتحريض البراعم في نطاق التركيز 1 ملغم/لتر. دلت الملاحظات المورفولوجية والتشريحية أن نمو النبات يتكون من الكالس والبراعم والبراعم المحتملة. تكون البراعم المحتملة في المراحل الكروية (جلوبولار) والطوربيدات

الكلمات الرئيسية: تحريض البراعم، BAP، *Citrus limonia Osbeck*

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh.

Puji syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul **“Induksi Tunas Jeruk *Japansche Citroen (JC) (Citrus Limonia Osbeck)* Pada Berbagai Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) Dengan Teknik TCL (*Thin Cells Layer*)”**.

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

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

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

8. Kedua orang tua penulis, Bapak Hari Eko dan Ibu Fitriyah yang senantiasa memberikan kasih sayang, do'a, serta dorongan semangat menuntut ilmu kepada penulis selama ini.
9. Laboran dan staff administrasi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Seluruh teman-teman Biologi angkatan 2015 terima kasih atas kerja sama, motivasi, serta bantuannya selama menempuh studi di jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan sumbangan pemikiran, do'a dan semangat hingga terselesaikannya skripsi ini.

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

Wassalamu 'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh.

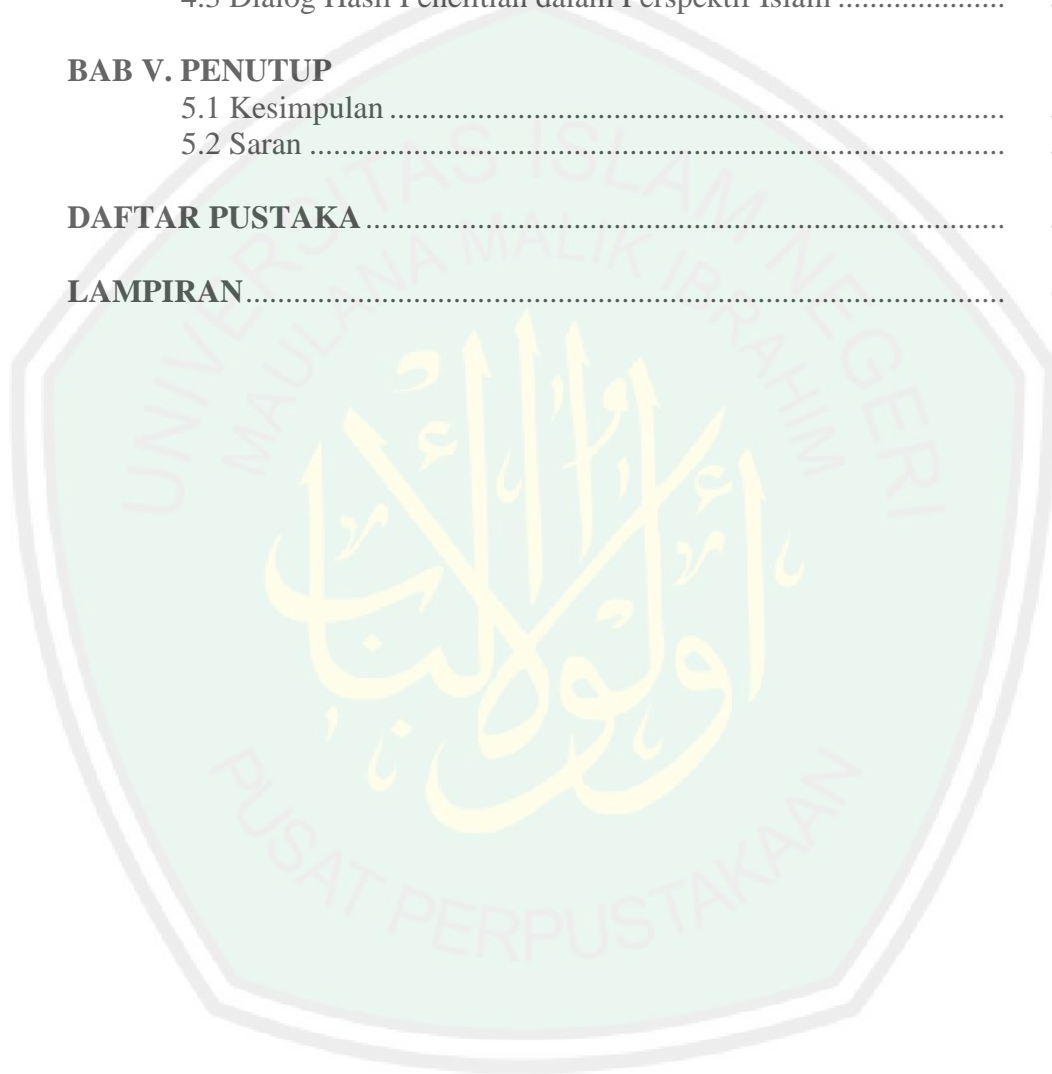
Malang, 17 Maret 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	v
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
البحث.....	ix
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	9
1.3 Tujuan Penelitian.....	9
1.4 Hipotesis.....	10
1.5 Manfaat Penelitian.....	10
1.6 Batasan Masalah.....	10
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Proses Pertumbuhan Tanaman dalam Al-Qur'an.....	12
2.2 Klasifikasi Tanaman Jeruk Japansche Citroen (JC).....	15
2.2.1 Morfologi Biji Jeruk.....	18
2.3 Kultur Jaringan Tumbuhan.....	19
2.3.1 Pengertian Kultur Jaringan.....	19
2.3.2 Media Kultur Jaringan.....	20
2.4 Sumber Eksplan.....	20
2.5 Morfogenesis.....	22
2.5.1 Organogenesis.....	22
2.5.2 Embriogenesis.....	24
2.6 Zat Pengatur Tumbuh dalam Kultur Jaringan.....	25
2.5.1 BAP (<i>6-Benzylaminopurine</i>).....	28
2.7 Pengaruh Sitokinin pada Pertumbuhan Tunas Jeruk.....	29
2.8 Thin Cell Layer (TCL).....	30
BAB III. METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian.....	32
3.2 Waktu dan Tempat.....	32
3.3 Alat dan Bahan.....	32
3.4 Langkah Kerja.....	33
3.4.1 Sterilisasi Ruang Tanam.....	33

3.4.2 Pembuatan Media	34
3.4.3 Persiapan Bahan Tanam dan Penanaman	36
3.5 Pengamatan	38
3.6 Analisis Data	39
3.7 Desain Penelitian	40
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengamatan Morfologi dan Anatomi Pertumbuhan Eksplan..	41
4.2 Pengaruh Konsentrasi BAP terhadap Induksi Tunas Jeruk JC	45
4.3 Dialog Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam	53
BAB V. PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	58
5.2 Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	65



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Fase-Fase Pertumbuhan Eksplan	41
4.2 Hasil ANAVA pengaruh BAP terhadap Induksi Tunas Jeruk JC	45
4.3 Hasil DMRT 5% pengaruh BAP terhadap Induksi Tunas Jeruk JC	46



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Jeruk Japansche Citroen (JC)	17
2.2 Fase Globular	25
2.3 Fase Heart.....	25
2.4 Fase Torpedo.....	25
2.5 Interaksi auksin dan sitokinin dalam kultur jaringan tumbuhan	27
2.6 Struktur Kimia BAP.....	28
3.1 Langkah Kerja.....	40
4.1 Hasil analisis regresi pengaruh BAP terhadap waktu muncul tunas.....	50
4.2 Hasil analisis regresi pengaruh BAP terhadap jumlah tunas	51
4.3 Hasil analisis regresi pengaruh BAP terhadap panjang tunas.....	51
4.4 Hasil analisis regresi pengaruh BA terhadap berat eksplan	51

DAFTAR LAMPIRAN

1. Data hasil pengamatan	65
2. Hasil ANAVA dan DMRT 5%	69
3. Perhitungan dan Pengambilan larutan stok BAP	72
4. Foto alat penelitian	73
5. Foto bahan penelitian	74



DAFTAR SINGKATAN

Simbol / Singkatan	Keterangan
JC	Japansche Citroen
ANAVA	Analisis Varian
BAP	Benzil Amino Purin
°C	Derajat Celcius
DNA	Deoxyribo Nukleid Acid
DMRT	Duncan Multiple Range Test
g	gram
G1	Gap 1
G2	Gap 2
HST	Hari Setelah Tanam
BAP	6-Benzylaminopurine
LAF	Laminar Air Flow
mg	miligram
mL	miliLiter
mRNA	messenger-RNA
MS	Murashige Skoog
NAA	Naphtalene Acetic Acid
pH	power of Hidrogen
RAL	Rancangan Acak Lengkap
RNA	Ribo Nukleid Acid
TCL	Thin Cell Layer
TDZ	Thidiazuron
UV	Ultraviolet
Mg	miligram
ZPT	Zat Pengatur Tumbuh

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Surat Asy-Syu'araa ayat 7 mengisyaratkan bahwa Allah telah menciptakan bumi ini dengan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang dalam penciptaannya Allah telah melengkapi dengan berbagai manfaat bagi kehidupan makhluk hidup lainnya. Ayat tersebut berbunyi

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

Artinya : *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik”* (Q.S As-syu'araa : 7).

Berdasarkan ayat tersebut secara tersirat memberi isyarat kepada manusia agar mau berpikir serta mengkaji atas ciptaan Allah SWT yang bermacam-macam. Makna dari *“tumbuh-tumbuhan yang baik”* adalah Allah menciptakan berbagai tumbuhan yang mendatangkan manfaat untuk memenuhi kebutuhan manusia, seperti jeruk yang memiliki berbagai kandungan vitamin yang diperlukan oleh tubuh.

Jeruk merupakan komoditas hortikultura yang berasal dari Asia Tenggara, India, Cina, Australia dan Keledonia Baru yang banyak digemari oleh masyarakat. Indonesia merupakan negara yang sudah memproduksi dan membudidayakan jeruk sejak ratusan tahun yang lalu. Tanaman jeruk yang ada di Indonesia adalah peninggalan Belanda yang mendatangkan jeruk manis dan keprok dari Amerika dan Italia (Ridjal, 2008).

Jeruk memiliki manfaat yang cukup banyak diantaranya kandungan vitamin C yang tinggi, seperti yang telah dijelaskan oleh (Wariyah, 2010) bahwa vitamin C sangat penting dibutuhkan oleh tubuh. Vitamin C dapat mencegah beberapa penyakit seperti jantung, kanker dan penuaan dini. Fungsi dari vitamin C yaitu sebagai zat antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas hasil oksidasi lemak. Beberapa penelitian lain, pengobatan yang menggunakan bahan dasar tanaman sangat melekat di berbagai lapisan masyarakat. Hal ini juga dijelaskan oleh Elon (2015) bahwa vitamin C yang terkandung dalam jeruk dapat menurunkan kadar kolesterol total darah dimana vitamin C tersebut sebagai anti oksidan alami yang bekerja dengan menurunkan *oxidative stress*, menghambat transportasi lemak di sepanjang dinding usus halus, sehingga akan menurunkan kolesterol dalam darah.

Budidaya dan perbanyakan jeruk dilakukan secara vegetatif seperti okulasi atau penyambungan antara batang atas dan batang bawah. Batang bawah jeruk yang digunakan berasal dari biji karena mempunyai keunggulan yaitu daya adaptasi tinggi, perakaran yang kuat, pertumbuhan vegetatif yang cepat, dan bisa dipilih dari jenis jeruk yang tahan penyakit (Puspitasari, 2017). Menurut Suwandi dalam Riady (2017) Okulasi merupakan cara penyambungan satu mata tunas sebagai entres (batang atas) dengan batang bawah pada tanaman sejenis (sefamili). Teknik perbanyakan yang dilakukan dengan okulasi akan menghasilkan tanaman yang kuat dengan hasil produksi yang tinggi sehingga diperlukan batang bawah dengan kualitas yang baik yang mampu beradaptasi pada kondisi lingkungan yang kurang optimal seperti kekeringan sehingga dapat menopang batang atas untuk mendukung produksi buah yang tinggi. Suharsi (2014) menambahkan keistimewaan dari penggunaan batang bawah yang telah berumur 12 bulan memiliki perakaran yang

baik yang dapat tumbuh pada tanah yang berbatu dan kurang subur dibandingkan dengan batang bawah yang berumur lebih muda atau lebih tua.

Tanaman batang bawah jeruk yang banyak dikembangkan di Indonesia terdiri dari dua jenis yaitu *Rough Lemon* (RL) (*Citrus jambhiri* Lush) dan jenis *Japansche Citroen* (JC) (*Citrus limonia* Osbeck.). Keunggulan yang dimiliki dari kedua jenis jeruk tersebut yaitu mempunyai daya tahan yang tinggi pada kekeringan dan memiliki akar yang dapat menyebar secara lateral maupun vertikal (Supriyanto, 2000).

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan oleh Susanto (2003) bahwa batang bawah *Japansche Citroen* memiliki sifat lebih mendorong pertumbuhan vegetatif batang atas dibandingkan dengan *Rangpur Lime* dan *Rough Lemon*. Menurut penelitian Rahayuni dan Hadijah (1996) batang bawah *Japansche Citroen* tumbuh lebih vigor dan memiliki ukuran yang lebih besar jika dibandingkan dengan batang bawah *Rough Lemon*, *Citrus aurantifolia*, *Citrus amblycarpa* dan *Citroen nobilis*. Berdasarkan hal tersebut bahwa batang bawah *Japansche Citroen* mempunyai tingkat kompatibilitas yang baik dengan berbagai varietas jeruk batang atas.

Permintaan benih jeruk *Japansche Citroen* (JC) dari tahun menahun semakin meningkat. Pada kondisi normal tanaman akan mulai berbuah umur 2-2,5 tahun dengan produksi sekitar 30-40 kg per pohon, apabila populasi 600-800 pohon per hektar (tanah lereng) mampu menghasilkan 13-15 ton per hektar. Pada puncaknya (6-10 tahun) jeruk JC mampu menghasilkan buah 75-150 kg per pohon per tahun (33-50 ton) per ha. Dalam 100 kg buah jeruk JC (masak fisiologis) setelah dipisahkan biji dari buahnya mampu mendapatkan benih (biji) 1-1,2 kg dalam

kondisi basah, setelah dikeringanginkan dan diseleksi bobotnya susut menjadi 700-800 gram.

Beberapa tahun terakhir produktivitas jeruk nasional cenderung mengalami banyak penurunan. Hal ini terjadi pada tahun 2011 produksi jeruk sebesar 1.721.880 ton menjadi 1.498.394 ton pada tahun 2012, tahun 2014 produksi jeruk sebesar 1.785.256 ton menjadi 1.744.330 ton pada tahun 2015 (Puspitasari, 2017). Penurunan ini terjadi karena banyak faktor, diantaranya lahan produksi semakin berkurang, banyaknya serangan virus, hama dan penyakit yang terjadi dilahan perkebunan.

Direktorat Jendral Perbenihan dalam Ayu (2017) menjelaskan untuk mendapatkan 10.000 bibit jeruk hasil okulasi membutuhkan 40.000 biji. Hal ini yang menjadi pemicu permasalahan yang sering terjadi dalam penyediaan bibit jeruk bermutu dimana hasil benih yang didapatkan tidak sebanding dengan hasil semaian.

Ketersediaan bibit unggul yang masih relatif sedikit, disebabkan karena pengelolaan kebun jeruk yang tidak optimal. Hal ini karena petani jeruk banyak yang belum menerapkan inovasi teknologi anjuran hasil dari penelitian sehingga meskipun produktivitasnya tidak terlalu rendah, mutu buah yang dihasilkan kurang memuaskan (Wahyudi *et al.*, 2017).

Kunci keberhasilan pengembangan buah-buahan, sangat ditentukan oleh ketersediaan benih yang bermutu. Pengembangan jeruk yang berkualitas memerlukan bibit yang memiliki kualitas dan kuantitas yang baik serta seragam (Aeni, 2017). Oleh sebab itu pengembangan bibit yang berkualitas perlu

dusahakan. Salah satu upaya untuk mendapatkan hasil benih yang bermutu adalah dengan cara melakukan teknik kultur jaringan (*in vitro*).

Teknik kultur jaringan tumbuhan adalah suatu metode atau teknik untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti sel, jaringan dan organ dengan kondisi lingkungan yang steril dan terkendali sehingga bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi membentuk tanaman lengkap yang sama dengan induknya (Gunawan, 1987). Keuntungan dari metode kultur jaringan ini yaitu untuk mendapatkan banyak tanaman unggul baik secara kualitas maupun kuantitas dalam waktu yang relatif lebih singkat (Sarwono dalam Rasud 2015). Zulkarnain (2009) menambahkan tanaman yang dihasilkan dengan kultur *in vitro* adalah tanaman yang secara genetik akan identik dengan induknya. Hal ini karena rekombinasi acak dari karakter genetik yang terjadi pada perbanyakan seksual (melalui biji) dapat dihindarkan.

Perbanyakan suatu tanaman melalui kultur jaringan baik yang dilakukan dengan perbanyakan embrio (embriogenesis) maupun multiplikasi organ (organogenesis) memiliki kelebihan dibandingkan dengan melakukan perbanyakan secara konvensional yakni, bahan tanaman yang digunakan lebih sedikit sehingga tidak merusak tanaman induk, menghasilkan tanaman yang bebas penyakit, tidak tergantung pada musim, tidak membutuhkan tempat yang luas dan jumlah bibit yang dihasilkan akan jauh lebih tinggi (Sukmadjaja dan Mariska, 2003).

Tahap awal yang dilakukan dalam proses kultur jaringan dengan tujuan perbanyakan tanaman atau propagasi yakni induksi tunas dari eksplan. Menurut Hendaryono (1994) Eksplan merupakan bahan tanaman yang berasal dari bagian tanaman tertentu yang dipakai untuk perbanyakan tanaman dengan sistem kultur

jaringan. Eksplan yang dapat digunakan untuk inisiasi tunas salah satunya yaitu kotiledon. Menurut Setiono dan Supriyanto (2005) biji jeruk umumnya memiliki sifat poliembrioni yaitu apabila dikecambahkan akan menghasilkan dua anakan, yaitu anakan yang berasal dari fertilisasi (zigot) atau disebut dengan anakan generatif, dan anakan vegetatif yang berasal dari embrio yang terbentuk dari sekelompok sel pada integumen maupun nuselus dan biasa disebut juga anakan nuselar.

Teknik kultur jaringan berdasarkan arah tumbuhnya terbagi menjadi dua yaitu organogenesis dan embryogenesis (Manuhara, 2014). Organogenesis merupakan proses diferensiasi yang memiliki sifat unipolar atau hanya memiliki satu arah tumbuh, yang mana eksplan hanya akan membentuk tunas atau akar saja. Sedangkan embriogenesis adalah bagian dari proses morfogenesis dimana embriogenesis memiliki sifat bipolar yang mana dalam satu eksplan akan membentuk dua arah pertumbuhan yaitu bakal tunas dan bakal akar dalam waktu yang relatif sama (Manuhara, 2014). Embriogenesis merupakan proses yang penting dalam pembentukan individu baru. Embriogenesis zigotik dan embriogenesis somatik memiliki tahapan perkembangan yang sama yaitu bulat (globular), jantung (heart), torpedo, dan akhirnya berkecambah menjadi planlet (Zulkarnain, 2009 dan Manuhara, 2014).

Keberhasilan dalam metode kultur jaringan salah satunya ditentukan oleh komposisi media dan penambahan zat pengatur tumbuh ke dalam media. Media kultur jaringan sangat penting karena sebagai penyedia unsur karbon berupa sukrosa, unsur mikro dan makro serta vitamin (Karjadi, 2007). Penelitian ini

menggunakan media Murashige and Skoog (MS) sebagai media dasar untuk menumbuhkan tunas jeruk JC.

Banyak penelitian menunjukkan bahwa media dasar MS berpengaruh baik untuk kultur jaringan pada beberapa jenis tanaman. Media MS mengandung nitrat, amonium dan kalsium lebih tinggi daripada kebanyakan media lain. Konsentrasi ammonium yang tinggi dapat mempengaruhi pembentukan tunas in vitro dengan cara meningkatkan sistem sitokinin. Sedangkan nitrat dan kalsium yang terkandung berpengaruh dalam mendukung pertumbuhan tunas (Prayoga, 2009).

Zat pengatur tumbuh (ZPT) berperan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman. Penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) disesuaikan dengan arah pertumbuhan yang diinginkan. Penggunaan ZPT ini akan merangsang dan memicu pertumbuhan lebih cepat dibandingkan jika tidak menggunakan ZPT yang menyebabkan pertumbuhannya menjadi lambat atau tidak dapat tumbuh. Menurut (Lestari, 2011) terjadi interaksi antara zat pengatur tumbuh endogen yang diproduksi oleh jaringan dengan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media (eksogen). Interaksi keduanya yang akan menyebabkan munculnya tunas atau akar.

Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur jaringan terdiri dari sitokinin dan auksin dimana keduanya memiliki peran dan fungsi masing-masing. Dalam proses subkultur, penambahan ZPT dari golongan sitokinin seperti 6- *Benzylamino Purin* (BAP) yang memiliki fungsi dapat memacu pembelahan sel (Sugiharto, 2007). BAP sering digunakan dalam kultur jaringan karena memiliki sifat yang stabil, mudah diperoleh dan lebih efektif dibandingkan dengan kinetin. Menurut (Muliati, 2017) BAP Merupakan sitokinin sintetik yang apabila

dikombinasikan dengan auksin akan merangsang pembelahan sel dalam jaringan, merangsang pertumbuhan tunas dan meningkatkan sintesis protein.

Pemberian Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) sitokinin jenis BAP pada penelitian sebelumnya dapat menginduksi tunas. Penelitian Jajoo (2009) yaitu perbanyak *Citrus limonia* Osbeck melalui *nucellar embryo* secara *in vitro*. Eksplan yang digunakan yaitu embrio nucellar biji jeruk. Penelitian ini menggunakan media MS dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) BAP untuk pembentukan tunas. Hasil tertinggi dari jumlah rata-rata tunas yang terbentuk terdapat pada konsentrasi BAP 2,22 μM dengan rata-rata 18,26 per eksplan. Penambahan NAA pada penelitian ini menurunkan jumlah tunas yang terbentuk yaitu dengan rata-rata 9,6 tunas dalam kombinasi NAA 2,69 μM dan BAP 2,22 μM .

Penelitian (Rasud, 2015) pada kultur kotiledon jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) pemberian BAP 1,0 ppm diperoleh saat muncul tunas paling cepat yaitu 6 minggu setelah tanam, jumlah tunas 2,12 tunas per eksplan dan jumlah daun paling banyak yaitu 5,00 helai daun per eksplan. Samanhudi (2010) pada kultur jeruk Tawangmangu Jumlah tunas terbanyak terdapat pada perlakuan BAP 0.5 ppm yaitu dengan rata-rata jumlah tunas 3,93. jika dibandingkan dengan perlakuan tanpa BAP, BAP 1 ppm. BAP 1,5 ppm dan BAP 2 ppm yang hasilnya lebih sedikit.

Penanaman eksplan pada media dengan teknik *Thin Cells Layer* (TCL). TCL adalah teknik pemotongan organ dengan potongan yang tipis berasal dari potongan suatu organ dan digunakan sebagai eksplan. Pengertian dari eksplan sendiri menurut Hendaryono (1994) adalah bahan tanaman yang berasal dari bagian tanaman tertentu yang dipakai untuk perbanyak tanaman dengan sistem kultur jaringan. Pada teknik TCL ini, jumlah planlet yang dihasilkan akan lebih efektif

jika dibandingkan dengan penanaman eksplan dengan ukuran yang besar. Hal ini dijelaskan oleh Steinmacher (2007) eksplan kecil dan tipis yang dihasilkan dari teknik TCL akan memudahkan proses difusi media ke jaringan tumbuhan.

Pemberian BAP dalam media kultur jaringan diharapkan mampu memberikan hasil pertumbuhan tunas jeruk kultivar Japansche Citroen (JC) dengan konsentrasi tertentu sehingga pertumbuhannya baik. Oleh karena itu, untuk mengetahui konsentrasi yang tepat untuk pertumbuhan tunas jeruk Japansche citroen (JC), maka perlu dilakukan penelitian dengan judul “Induksi Tunas Jeruk Japansche Citroen (JC) (*Citrus Limonia* Osbeck) Pada Berbagai Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) Dengan Teknik TCL (*Thin Cells Layer*)”.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu antara lain:

1. Bagaimana pengaruh BAP terhadap morfologi dan anatomi pertumbuhan eksplan jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.)?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi BAP terhadap pertumbuhan tunas jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu antara lain:

1. Mengetahui pengaruh BAP terhadap morfologi dan antomi pertumbuhan eksplan jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).
2. Mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi BAP terhadap pertumbuhan tunas jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).

1.4 Hipotesis

Hipotesis untuk penelitian ini yaitu:

1. Terdapat pengaruh pemberian BAP terhadap morfologi dan anatomi pertumbuhan eksplan jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).
2. Terdapat pengaruh BAP terhadap pertumbuhan tunas jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapatkan dalam penelitian ini antara lain:

1. Memberikan informasi tentang pengaruh BAP terhadap pertumbuhan tunas jeruk JC.
2. Memberikan informasi mengenai teknik kultur jaringan tumbuhan pada tanaman jeruk.
3. Memproduksi bibit batang bawah jeruk JC dengan cepat dan banyak.
4. Kualitas bibit batang bawah semakin baik.
5. Meningkatkan perekonomian petani jeruk dengan adanya kualitas bibit yang baik.
6. Mendapatkan hasil panen yang lebih memuaskan.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini yaitu antara lain:

1. Benih tanaman jeruk Japansche Citroen (JC) berasal dari Balai Penelitian Jeruk dan Tanaman Subtropika (Balijestro).
2. Bagian tanaman yang dijadikan eksplan adalah kotiledon biji jeruk Japansche Citroen (JC) yang dipotong dengan ukuran 1 mm.

3. Media yang digunakan dalam penelitian yaitu media MS dan zat pengatur tumbuh BAP.
4. Konsentrasi perlakuan zat pengatur tumbuh BAP yaitu 0 mg/L, 0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 1.5 mg/L, dan 2.0 mg/L.
5. Media yang digunakan dengan penambahan NAA 0.025 mg/L, metionin 60 mg/L, vitamin 2 ml dan myoinositol 250 mg.
6. Pemotongan eksplan menggunakan teknik transversal (melintang) Thin Cells Layer (tTCL).
7. Parameter yang diamati meliputi hari muncul tunas, panjang tunas, jumlah tunas, berat basah dan morfologi serta anatomi kalus yang terbentuk pada 90 hari setelah tanam.
8. Tunas yang terbentuk merupakan tahap dari pendewasaan atau tahap perkembangan dari struktur globular membentuk kotiledon dan primordia akar. Pembentukan tunas ditandai dengan adanya pembekakan atau penebalan pada bagian potongan eksplan yang ditanam.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Proses Pertumbuhan Tanaman dalam Al-Qur'an

Allah SWT berfirman dalam surat At-Thoha ayat 53 yang berbunyi sebagai berikut:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِنْ

نَبَاتٍ شَتَّىٰ

Artinya : *“Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam“ (Q.S At-Thoha : 53).*

Menurut penjelasan tafsir Al-Qami (2007) bahwa yang telah menjadikan bumi terbentang dan terhampar agar dapat dimanfaatkan dan dapat didiami hanyalah Allah SWT semata. Allah juga telah menurunkan hujan dari langit dan kemudian tumbuh berbagai jenis tumbuhan di bumi sebagai rezeki bagi manusia dan hewan.

Berdasarkan ayat di atas dapat diambil pelajaran bahwa Allah telah memberikan rezeki serta nikmat yang luar biasa berupa alam beserta isinya. Allah menurunkan air hujan dan menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan untuk makhluknya baik manusia maupun hewan untuk memenuhi kebutuhan sehari-hari. Misalnya untuk kebutuhan sandang, pangan dan juga yang dimanfaatkan sebagai obat-obatan. Tumbuhan tersebut memiliki karakteristik dan ciri khas yang berbeda-beda. Ada yang dapat dimanfaatkan dengan mengonsumsi

buahnya secara langsung dan juga dapat dimanfaatkan untuk obat contohnya seperti buah jeruk.

Allah berfirman dalam surat Al-Waqi'ah ayat 62-64 yang berbunyi:

وَلَقَدْ عَلِمْتُمُ النَّشْأَةَ الْأُولَىٰ فَالَوْلَا تَذَكَّرُونَ (٦٢) أَفَرَأَيْتُمْ مَا تَحْرُثُونَ (٦٣) ءَأَنْتُمْ تَرْزَعُونَهُ ۚ أَمْ نَحْنُ الزَّارِعُونَ (٦٤)

Artinya : *“Dan sesungguhnya kamu telah mengetahui penciptaan yang pertama, maka mengapakah kamu tidak mengambil pelajaran [untuk penciptaan yang kedua]? (62) Maka terangkanlah kepadaku tentang yang kamu tanam? (63) Kamukah yang menumbuhkannya atautkah Kami yang menumbuhkannya? (64)” (Q.S Al-Waqiah 62-64).*

Kata “Tadzakkurun” pada tafsir A-Misbah merupakan ata kerja “Mudhori” yang mengisyaratkan bahwa pada masa lalu kamu belum menarik pelajaran, maka pada masa sekarang dan yang akan datang seharusnya kamu secara bersungguh-sungguh menarik pelajaran (Shihab, 2001).

Tafsir Al-Maraghi (1992) dijelaskan pula bahwa “Tahrutsun” mempunyai makna kamu menyebarkan bijinya dan mengelola tanahnya. Sedangkan pada kata “Tazra'unahu” mempunyai makna kamu menumbuhkan dan menjadikannya tumbuhan yang berkembang.

Berdasarkan ayat tersebut, dapat diambil pelajaran bahwa apa yang telah ada di bumi ini telah Allah SWT ciptakan pertama termasuk dalam penciptaan tumbuhan. Dari hal tersebut kemudian dapat dipelajari dan diaplikasikan pada penciptaan yang kedua. Maksud dari penciptaan yang kedua ini yaitu teknik kultur jaringan. Pada teknik kultur jaringan tumbuhan ini dapat mengkaji tentang penciptaan Allah yaitu yang telah menumbuhkan tumbuhan diatas tanah dimana didalamnya telah tersedia berbagai unsur dan zat hara untuk proses pertumbuhan.

Kemudian dapat diterapkan pada kultur jaringan dengan membuat media kultur yang dilengkapi dengan unsur-unsur esensial seperti halnya yang terdapat pada tanah. Unsur-unsur tersebut dapat berupa unsur hara makro dan mikro, vitamin dan juga zat pengatur tumbuh sehingga tumbuhan dapat tumbuh dengan baik, hal ini juga atas kehendak Allah SWT.

Allah SWT sebagai pencipta alam semesta beserta isinya tidak hanya mencipta tanpa menyempurnakan segala sesuatunya sesuai dengan ukuran dan takaran masing-masing. Hal ini telah dijelaskan dalam firman Allah SWT pada surat Al-A'laa ayat 1-4

سَبِّحْ اسْمَ رَبِّكَ الْأَعْلَى (١) الَّذِي خَلَقَ فَسَوَّى (٢) وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَى (٣) وَالَّذِي أَخْرَجَ الْمَرْعَى (٤)

Artinya: “*Sucikanlah nama Tuhanmu Yang Maha Tinggi, yang menciptakan dan menyempurnakan [penciptaan-Nya], dan yang menentukan kadar masing-masing dan memberi petunjuk, dan yang menumbuhkan rumput-rumputan*” (Q.S Al-A'laa: 1-4).

Berdasarkan surat tersebut menjelaskan bahwa Allah menciptakan semua yang ada di bumi sesuai dengan kadarnya masing-masing. Hal ini terdapat pada ayat ketiga adanya kata “*kadar*”, dimana pada penelitian ini dimaksudkan agar memperoleh kadar (konsentrasi) yang tepat dan seimbang antara zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media (eksogen) dengan zat pengatur tumbuh yang telah ada dalam tanaman tersebut (endogen). Keseimbangan inilah yang akan menjadikan tanaman tersebut tumbuh dan diperoleh konsentrasi terbaik dari BAP yang digunakan untuk menumbuhkan tunas jeruk Japansche citroen (JC).

2.2 Klasifikasi dan Deskripsi Tanaman Jeruk Japansche Citroen (JC)

Swingle dan Reece (1967) menjelaskan bahwa jeruk Japansche Citroen (JC) berasal dari India yang disebut dengan *Rangpur Lime* atau *Canton Lemon*, jeruk Japansche Citroen (JC) ini memiliki nama yang berbeda pada tiap negara contohnya di Jepang jeruk ini disebut dengan *Hime Lemon* sedangkan di Brazil disebut dengan *Cravo Lemon*. Klasifikasi jeruk Japansche Citroen (JC) adalah sebagai berikut USDA (2014):

Kingdom: Plantae

Devisi: Magnoliophyta

Kelas: Magnoliopsida

Ordo: Sapindales

Famili: Rutaceae

Genus: *Citrus*

Species: *Citrus limonia* Osbeck

Kultivar: Japansche Citroen

Jeruk merupakan tanaman buah tahunan yang berasal dari Asia dan sudah ditumbuhkan dan dibudidaya dengan baik di Indonesia. Jeruk memiliki 6 genus yaitu: 1) *Citrus*, 2) *Microcitrus*, 3) *Fortunella*, 4) *Eremocitrus*, 5) *Cymenia*, dan 6) *Poncirus*. Dari 6 genus tersebut, jenis citrus yang paling banyak dikenal oleh masyarakat. Menurut Roy dan Goldschmidt (2008) *Citrus* dikelompokkan menjadi 2 subgenus yaitu citrus dan papeda. Sub genus citrus terdiri dari 10 spesies yaitu *C. medica* L., *C. aurantium* L., *C. sinensis* Osbeck, *C. grandis* Osbeck, *C. limon* (L.) Burm.f, *C. reticulate* Blanco, *C.aurantifolia* Christm., *C. paradise* Macf., *C. tachibana* Tan., *C. indica* Tan. Dari 10 spesies tersebut, 7 diantaranya banyak

dibudayakan dan saat ini menjadi jeruk komersial (Martasari, 2008). Sedangkan subgenus *Papeda* meliputi 6 spesies antara lain *C. hystrix* D.C., *C. macroptera* Mont., *C. celebica* Koord., *C. ichangensis* Swing., *C. micrantha* Webster, dan *C. latipes*.

Jeruk Japansche Citroen (*Citrus limonia* Osbeck) merupakan anggota dari famili Rutaceae dan berasal dari persilangan antara *Citroes nobilis* (keprok) X *Citroes medica* (lemon). Japansche Citroen (*Citrus limonia* Osbeck) memiliki keunggulan dibandingkan dengan jenis jeruk lain, yaitu memiliki batang bawah dengan tingkat kompatibilitas yang baik. Menurut Sugiyarto (1994) Batang bawah yang digunakan pada jeruk Japansche Citroen (JC) bersifat lebih tahan terhadap kekeringan, memproduksi buah dengan kualitas yang baik dan memiliki kepekaan terhadap *Exocortis* (virus yang menyebabkan tanaman menjadi kerdil yang menyerang pada bagian kulit tanaman).

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan oleh Susanto (2003) bahwa batang bawah Japansche Citroen memiliki sifat lebih mendorong pertumbuhan vegetatif batang atas dibandingkan dengan *Rangpur Lime* dan *Rough Lemon*. Menurut penelitian Rahayuni dan Hadijah (1996) batang bawah Japansche Citroen tumbuh lebih vigor dan memiliki ukuran yang lebih besar jika dibandingkan dengan batang bawah *Rough Lemon*, *Citrus aurantifolia*, *Citrus amblycarpa* dan *Citroen nobilis*.

Jeruk Japansche Citroen tumbuh baik pada dataran rendah sampai dataran tinggi, memiliki ciri pohon perdu dengan ukuran 2-3,5 meter, kuat dan produktif, Batang jeruk ini pendek dan tidak berbulu dengan cabang menyebar dan merunduk,

dan terdapat duri-duri kecil dengan jumlah yang sedikit. Daun berwarna hijau gelap dan tipis bertulang dengan aroma yang menyengat.

Bunga Japansche Citroen (JC) berwarna ungu tua dengan ukuran yang kecil hingga sedang. Bunga terletak di ketiak daun dan memiliki bau yang harum. Sebagian besar bunganya adalah bunga jantan dan pada bagian bunga terdapat putik dan kelopak bunga. Buah jeruk Japansche Citroen berukuran kecil hingga sedang, warna kulit buah akan menjadi kekuningan sampai jingga kemerahan apabila buah telah masak. Buah Japansche Citroen (JC) memiliki rasa yang sangat asam sehingga tidak layak dikonsumsi.

Biji yang dihasilkan pada jeruk cukup banyak sekitar 8-10 biji per buah yang memiliki ukuran kecil hingga sedang dengan diameter 0,5 dan warna keping biji hijau muda. Menurut Sarwono (1995) biji buah jeruk yang dikeringkan di tempat yang teduh dapat digunakan untuk benih yang akan menghasilkan bibit batang bawah okulasi yang baik. Batang bawah jeruk Japansche Citroen memiliki daya dukung yang baik terhadap batang atas yang dapat meningkatkan vigor batang atas dan memiliki tingkat produksi buah yang baik (Dhita, 2011).



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

2.2.1 Morfologi Biji Jeruk JC

Biji jeruk yang masak terdiri atas satu atau lebih embrio masak yang dilindungi oleh dua bagian kulit benih. Bagian luar kulit benih tebal dan berkayu, berwarna putih keabuan sampai berwarna krem (*testa*). Bagian dalam kulit biji merupakan membrane tipis yang terbentuk dari integumen bagian dalam bakal biji serta sisa nuselus dan endosperm (*tegmen*). Sebagian besar volume embrio yang masak dipenuhi oleh kotiledon. Biji poliembrioni mempunyai ukuran kotiledon bervariasi, beberapa embrio mungkin kecil dengan kotiledon yang kurang berembang (Spiegel-Roy dan Goldschmidt, 1996)

Biji jeruk JC berbentuk bulat telur dan runcing di salah satu ujungnya. Biji jeruk biasanya berwarna putih atau putih keabuan. Ketersediaan pada tanaman jeruk tergantung pada varietasnya, ada yang berbiji namun ada pula yang tidak berbiji. Biji jeruk bersifat poliembrional yaitu dalam satu biji terdapat lebih dari satu embrio. Embrio tersebut adalah embrio zigotik dan embrio nuselar.

Embrio nuselar berfungsi untuk memperbanyak tanaman dan dapat menghasilkan tanaman yang secara genetik seragam serta identik dengan induknya. Namun, adanya tanaman *off type* yang berasal dari embrio zigotik merugikan dalam proses perbenihan karena menghasilkan tanaman yang memiliki vigor lemah serta dapat menurunkan produksi buah batang atas (Andrini, 2013).

Embrio nuselar merupakan bentuk adventif dari reproduksi dimana sel somatic dari jaringan nuselus diinisiasi untuk memasuki lintasan perkembangan embrionik. Embrio nuselar berkembang dari sel inisial nuselus yang berasal dari jaringan nuselus yang mengelilingi kantong embrio. Tidak terdapat kontribusi gamet jantan dalam pembentukan embrio nuselar. Dengan demikian, semaian asal

embrio nuselar bersifat identik dengan induknya kecuali terdapat variasi somatik (Kepiro dan Roose, 2007).

2.3 Kultur Jaringan Tumbuhan

2.3.1 Pengertian Kultur Jaringan

Kultur jaringan tumbuhan adalah teknik dalam memperbanyak tumbuhan dengan cara mengisolasi bagian dari tanaman baik berupa jaringan, sel atau organ seperti daun, bunga, batang, dan akar yang kemudian menumbuhkan pada media buatan yang didalamnya mengandung banyak nutrisi dan zat pengatur tumbuh dengan keadaan yang terkontrol dan steril sehingga bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman baru yang lengkap dan sama seperti induknya (Zulkarnain, 2009). Kultur jaringan tumbuhan disebut juga kultur *in vitro* yang merupakan metode isolasi organ atau jaringan yang dikultur atau ditanam pada kondisi steril dengan tujuan untuk membentuk tumbuhan yang sempurna dan dalam jumlah yang sangat banyak (Semendaya, 2014).

Bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan awal dalam kultur *in vitro* disebut dengan eksplan. Eksplan tersebut akan berkembang menjadi tanaman yang lengkap jika media tumbuh yang digunakan dalam kultur sesuai. Menurut Azriati (2010) Pola pertumbuhan kultur *in vitro* terjadi melalui dua cara yaitu dapat secara langsung dan secara tidak langsung. Pertumbuhan secara langsung terjadi jika pembentukan organ tanpa melalui pembentukan kalus sedangkan pertumbuhan secara tidak langsung jika terbentuknya organ didahului dengan pembentukan kalus dan dari kalus tersebut akan muncul organ.

Perbanyak secara vegetatif melalui kultur jaringan sudah sangat berkembang di belahan bumi, dan menjadi pemilihan memperbanyak tanaman yang

lebih komersil. Beberapa keuntungan yang diperoleh dalam kultur jaringan yaitu tanaman yang dihasilkan memiliki kualitas yang lebih unggul, banyak dan seragam, membutuhkan waktu yang relatif lebih singkat, biakan yang diperoleh merupakan biakan steril serta bebas penyakit, dan tidak memerlukan lahan yang luas (Surachman, 2011).

2.3.2 Media Kultur Jaringan

Komponen utama yang diperlukan dalam perbanyakan kultur jaringan adalah kebutuhan unsur hara dalam suatu media. Kandungan unsur yang harus ada dalam media antara lain makronutrient, mikronutrient, sumber karbon (gula), air, asam amino, vitamin dan zat pengatur tumbuh. Komponen-komponen tersebut kemudian dimodifikasi sehingga dapat menjadi media tanam yang sesuai sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan suatu tanaman.

Media kultur jaringan terdiri dari beberapa jenis media yang umum digunakan, seperti media dasar B5 (Gamborg) digunakan untuk subkultur suspensi sel, media dasar VW digunakan khusus untuk media angrek, media WPM digunakan pada tanaman berkayu, media dasar white digunakan dalam kultur akar dimana media tersebut memiliki konsentrasi garam mineral yang sangat rendah dan media MS merupakan media yang paling umum dan yang banyak digunakan (Hendaryono dan Wijayanti, 1994)

2.4 Sumber Eksplan

Menurut Hendaryono (1994) Eksplan merupakan bahan tanaman yang berasal dari bagian tanaman tertentu yang dipakai untuk perbanyakan tanaman dengan sistem kultur jaringan. Eksplan adalah bagian kecil dari suatu organ atau jaringan tanaman yang kemudian dipisahkan dari tanaman induknya dan

dikulturkan. Bagian-bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan meliputi potongan dari akar, batang, daun, umbi batang, umbi akar, tunas pucuk dan bagian bunga (Yusnita, 2003).

Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan dalam suatu teknik kultur jaringan yaitu ukuran eksplan. Terutama dalam penggunaannya untuk eliminasi virus. Bagian tanaman yang dapat dijadikan eksplan yang memiliki potensi bebas dari virus yaitu eksplan yang berasal dari bagian paling ujung (meristem) sekalipun eksplan tersebut diambil dari tanaman induk yang sakit. Hal tersebut dikarenakan pada sel-sel meristem memiliki sedikit vakuola sehingga pada jaringan meristem bebas dari infeksi virus, disamping terganggunya lintasan vaskular pada jaringan tersebut (Zulkarnain, 2014).

Eksplan meristematik yang digunakan umumnya akan memberikan keberhasilan pada pembentukan embrio somatik yang lebih tinggi. Adanya sifat genetik yang stabil pada jaringan meristem akan menghasilkan tanaman baru yang memiliki sifat-sifat genetik yang identik dengan induknya. Kemungkinan terjadinya mutasi pada meristem sangat kecil karena pada sel meristem memiliki mekanisme penggandaan DNA lebih efisien dibandingkan dengan sel-sel jaringan yang belum terorganisasi misalnya kalus (Stafford, 1991). Menurut Purnamaningsih (2002) eksplan yang dapat digunakan yaitu kotiledon, mata tunas, epikotil maupun hipokotil, aksis embrio zigotik muda dan dewasa. Sedangkan sumber eksplan yang paling sering digunakan dalam kultur jaringan yaitu bagian ujung tunas dan ujung meristem (Ahloowali, 2002).

2.5 Morfogenesis

2.5.1 Organogenesis

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

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

Organogenesis merupakan proses diferensiasi yang memiliki sifat unipolar atau hanya memiliki satu arah tumbuh, yang mana eksplan hanya akan membentuk tunas atau akar saja. Dalam proses organogenesis, terjadi dua kali induksi, yaitu induksi pada media dengan penambahan sitokinin untuk pembentukan tunas kemudian induksi pada media dengan penambahan auksin untuk pembentukan akar (Manuhara, 2014).

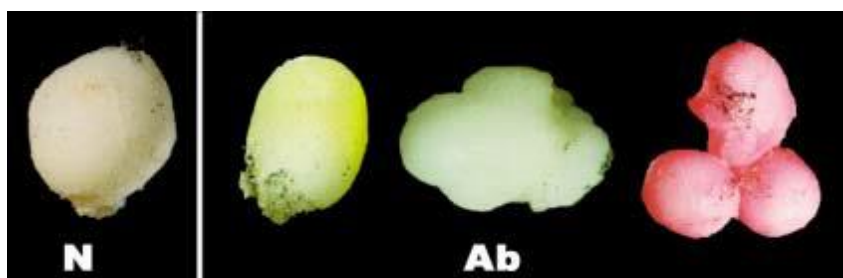
Organogenesis dapat dilakukan pada sel-sel yang bersifat meristematik dan kompeten yaitu sel-sel yang mampu memberi tanggapan terhadap sinyal lingkungan atau hormonal sehingga berakhir dengan terbentuknya organ. Respon tersebut tergantung pada fase dari siklus sel pada sel tersebut yaitu fase G1 (Trigiano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

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

2.5.2 Embriogenesis

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

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



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



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



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

2.6 Zat Pengatur Tumbuh dalam Kultur Jaringan

Keberhasilan dalam kultur secara *in vitro* adanya kehadiran zat pengatur tumbuh yang sesuai dengan kebutuhan suatu tanaman. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) digunakan untuk menstimulasi pertumbuhan akar dan tunas. Menurut (Situmeang, 2015) ZPT adalah suatu senyawa kimia yang pada konsentrasi rendah mampu menghambat, menstimulasi atau mempengaruhi proses fisiologis suatu tanaman.

Hormon atau fitohormon merupakan zat organik yang dihasilkan oleh tanaman secara endogen. Sedangkan zat pengatur tumbuh diproduksi secara eksogen akan tetapi memiliki karakteristik yang sama dengan hormon (Gunawan, 1987). Zat pengatur tumbuh terdiri dari lima kelompok diantaranya auksin, sitokinin, giberelin, etilen dan asam absisat yang memiliki fungsi serta ciri khas masing-masing dalam mempengaruhi proses fisiologis suatu tanaman (Abidin, 1983). ZPT yang sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman yaitu jenis auksin dan sitokinin. Kedua ZPT seringkali diberikan secara bersamaan untuk

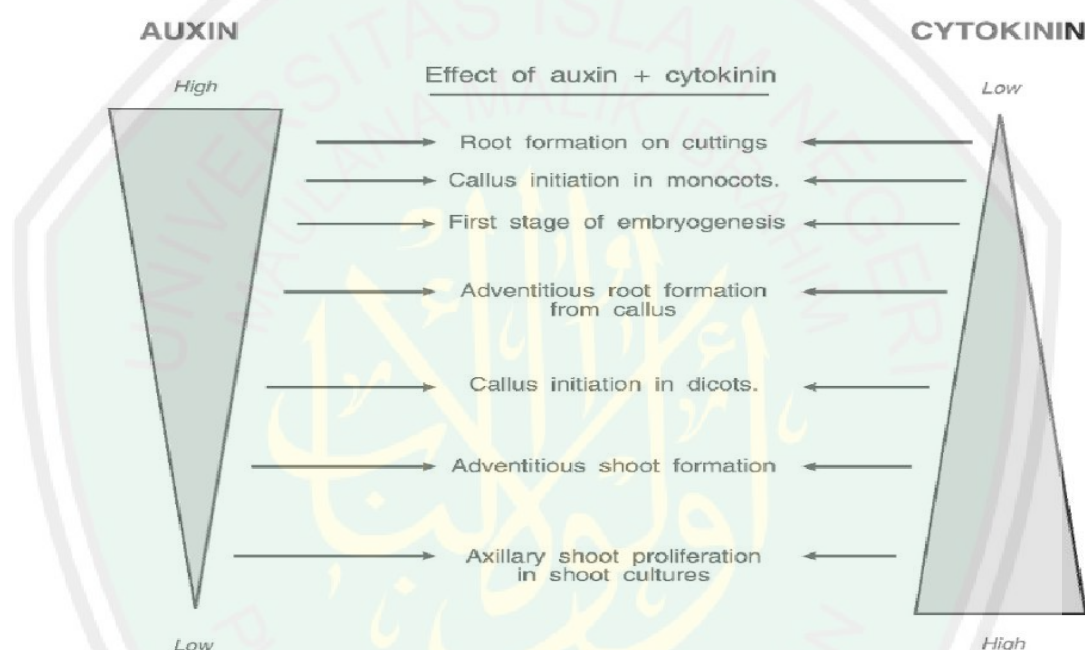
menginduksi pola morfogenesis tertentu. ZPT jenis sitokinin banyak digunakan untuk pertumbuhan tunas. Zulkarnain (2009) menyatakan bahwa sitokinin dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta mengatur partum buhan dan perkembangan tanaman. Selain itu, sitokinin juga dapat digunakan untuk metabolisme sel (Karjadi dan Buchory, 2007).

Sitokinin terbagi menjadi sitokinin alami dan sintetis. Zeatin dan kinetin termasuk dalam sitokinin alami sedangkan beberapa jenis lainnya termasuk sitokinin sintetis. Sitokinin alami banyak diproduksi pada jaringan meristem terutama pada akar, embrio dan buah. Produksi sitokinin pada akar selanjutnya akan diangkut menuju sel-sel target ke batang oleh xilem.

Auksin berfungsi untuk merangsang pemanjangan sel, dan menyebabkan respon pertumbuhan yang agak berbeda-beda. Auksin pertama kali ditemukan dan diidentifikasi adalah jenis Asam Indole Asetat (IAA). Auksin yang diberikan pada tanaman akan memacu pemanjangan potongan akar atau pada akar utuh pada banyak spesies tapi hanya pada konsentrasi yang sangat rendah atau tergantung spesies suatu tanaman dan umur tanaman. Pemberian auksin dengan konsentrasi tinggi akan menghambat pertumbuhan akar (Gardner *et al.*, 1991).

Penelitian terhadap penggunaan auksin dan sitokinin telah banyak dilakukan oleh para ahli. Penelitian Weier yang dikemukakan oleh Abidin (1983) Penggunaan kinetin dari golongan sitokinin dan IAA dari golongan auksin telah digunakan pada tobacco pith culture. Pada penelitian tersebut membuktikan adanya peranan dari kedua zat pengatur tumbuh terhadap suatu pertumbuhan. Aplikasi auksin dan sitokinin dalam berbagai perbandingan dan konsentrasi akan menghasilkan pertumbuhan yang berbeda. Pada penelitian tersebut membuktikan

bahwa, apabila konsentrasi sitokinin lebih besar dari konsentrasi auksin, maka akan memperlihatkan adanya pertumbuhan tunas dan daun. Sebaliknya, jika konsentrasi sitokinin lebih rendah dari konsentrasi auksin, maka akan menyebabkan pertumbuhan akar. Dan jika perbandingan sitokinin dan auksin seimbang maka pertumbuhan tunas, daun dan akar akan seimbang pula. Akan tetapi jika konsentrasi sitokinin sedang (intermediate) dan konsentrasi auksin rendah, maka pertumbuhan tobacco pith culture akan membentuk kalus.



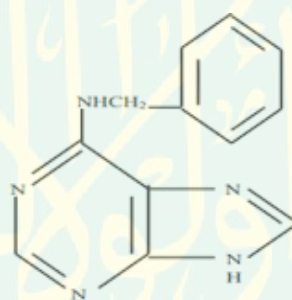
Gambar 2.5 Interaksi auksin dan sitokinin dalam kultur jaringan tumbuhan (George, 2008).

2.6.1 BAP (6--Benzilaminopurine)

Keberhasilan suatu pertumbuhan tunas dalam kultur in vitro dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi ZPT yang ditambahkan dalam komponen media. Jenis ZPT yang akan digunakan tergantung pada tujuan penelitian yang akan dilakukan. Pada pertumbuhan tunas-tunas adventif, ZPT yang digunakan adalah dari golongan

sitokinin. Sitokinin akan memengaruhi proses fisiologis pada tumbuhan terutama untuk mendorong pembelahan sel. Aktivitas inilah yang menjadi peran utama untuk menggolongkan suatu jenis zat ke dalam golongan sitokinin.

Jenis sitokinin yang paling sering digunakan dalam kultur jaringan (*in vitro*) adalah BAP (*6-benzylaminopurine*). BAP termasuk golongan sitokinin aktif yang akan mempengaruhi proliferasi tunas lebih dari satu jika diberikan pada tunas pucuk (Yusnita, 2003). BAP dan kinetin memiliki struktur yang sama, tetapi penggunaan BAP lebih efektif dibandingkan dengan jenis lain seperti kinetin karena BAP memiliki gugus benzil. Pada beberapa penelitian, BAP yang digunakan untuk memproduksi tunas *in vitro* maupun induksi kalus akan menghasilkan respon yang baik pada tanaman. Struktur BAP disajikan pada:



Gambar 2.6 Struktur Kimia BAP (Gardner, 1991)

BAP dapat memacu peningkatan produksi klorofil sehingga berpengaruh terhadap meningkatnya proses fotosintesis. Meningkatnya proses fotosintesis akan membentuk senyawa organik seperti karbohidrat sehingga akan berpengaruh terhadap proses pembentukan daun (Yusnita, 2003). Menurut Wattimena (1998) BAP tergolong sebagai sitokinin sintetik dengan berat molekul sebesar 225,26 yang penggunaannya juga dipengaruhi oleh ZPT lainnya.

2.7 Pengaruh Pemberian Sitokinin dalam Pertumbuhan Tunas Jeruk

Penelitian Samanhudi, *et al.* (2010) yaitu multiplikasi tunas jeruk Tawangmangu (*Citrus Nobilis* Lour.) menggunakan ZPT jenis BAP dengan konsentrasi 0, 0,5, 1, 1,5 dan 2 ppm dan NAA dengan konsentrasi 0, 0,5, 1, 1,5 dan 2 ppm. Bahan eksplan yang digunakan berasal dari tunas jeruk Tawangmangu yang telah membentuk satu node. Perlakuan BAP 0.5 ppm + 1.5 ppm NAA memiliki hasil terbaik dalam merangsang munculnya tunas yaitu 13 hari setelah tanam (hst). Namun pada perlakuan BAP yang lebih tinggi (1 ppm dan 2 ppm) tanpa adanya NAA, lebih efektif dalam mempercepat munculnya tunas. Penambahan BAP sangat berpengaruh terhadap jumlah tunas. Jumlah tunas terbanyak terdapat pada perlakuan dengan penambahan BAP 0.5 ppm. Pemberian BAP lebih dari 0.5 ppm yaitu 1 hingga 2 ppm justru akan menurunkan jumlah tunas yang terbentuk.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Jajoo (2009) yaitu perbanyak *Citrus limonia* Osbeck melalui *nucellar embryo* secara *in vitro*. Eksplan yang digunakan yaitu embrio nucellar biji jeruk. Penelitian ini menggunakan media MS dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) BAP untuk pembentukan tunas. Hasil tertinggi dari jumlah rata-rata tunas yang terbentuk terdapat pada konsentrasi BAP 2.22 μM dengan rata-rata 18,26 per eksplan. Penambahan NAA pada penelitian ini menurunkan jumlah tunas yang terbentuk yaitu dengan rata-rata 9,6 tunas dalam kombinasi NAA 2,69 μM dan BAP 2,22 μM .

Berdasarkan penelitian tersebut, penggunaan zat pengatur tumbuh di dalam kultur jaringan menjadi hal yang sangat penting untuk proses pertumbuhan suatu tanaman, selain itu pemilihan zat pengatur tumbuh dapat disesuaikan tergantung pada arah pertumbuhan tanaman yang diinginkan. Pernyataan Chaeruddin (1996) dalam Kurnianingsih (2009) penggunaan sitokinin jenis BAP lebih efektif

digunakan jika dibandingkan dengan jenis sitokinin lain karena BAP tidak mudah dirombak oleh sintesis enzim dari suatu tanaman sehingga mampu memacu induksi tunas jika dibandingkan dengan kinetin.

Keberhasilan produksi bibit yang cepat dan banyak sangat tergantung pada pembentukan tunas secara *in vitro*. Hal ini dapat mempengaruhi semakin banyak tunas yang terbentuk maka akan mempengaruhi jumlah bibit yang dihasilkan melalui kultur jaringan. Dengan demikian penambahan sitokinin pada kultur jaringan akan memacu multiplikasi tunas yang tinggi (Parnata, 2004).

2.8 Thin Cells Layer (TCL)

Thin Cells Layer (TCL) adalah irisan sel tipis yang berasal dari potongan suatu organ yang digunakan sebagai eksplan. TCL terbagi menjadi dua macam berdasarkan arah potongannya yaitu transversal TCL (melintang) dan longitudinal TCL (memanjang). Teknologi TCL menggunakan bagian organ yang bersifat embriogenik dan telah dikembangkan untuk buah-buahan berkayu seperti jeruk, kelapa sawit dan manggis (Dobránszka & Teixeira-da-Silva, 2011).

Menurut Teixeira-da-Silva & Dobranzki (2013) irisan tipis (TCL) dapat dilakukan secara longitudinal (memanjang) (lTCL) dan transversal (melintang) (tTCL). Pada irisan lTCL berasal dari satu jenis jaringan yaitu monolayer sel epidermis. Sedangkan irisan tTCL eksplan terdiri dari sejumlah sel yang berasal dari berbagai jaringan yaitu kambium, epidermis, parenkim, kortikal, perivaskular dan medular.

Steinmacher *et al* (2007) menjelaskan teknik TCL yang digunakan sebagai eksplan lebih efektif dalam perbanyakan benih jika dibandingkan dengan penggunaan eksplan yang memiliki ukuran besar. Planlet yang dihasilkan pada

eksplan TCL lebih banyak, hal itu dikarenakan pada eksplan yang lebih kecil dan tipis akan memudahkan proses difusi media ke suatu jaringan tumbuhan.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk penelitian eksperimental dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan 1 faktorial yaitu penambahan berbagai konsentrasi BAP. Faktor BAP dengan 5 taraf perlakuan yaitu 0 mg/L (B0), 0.5 mg/L (B1), 1.0 mg/L (B2), 1.5 mg/L (B3), dan 2.0 mg/L (B4). Setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali, jadi total terdapat 25 unit percobaan. Uji lanjut untuk penelitian ini menggunakan Analisis Varian (ANOVA), apabila ada pengaruh dilanjutkan dengan uji DMRT 5% dan analisis regresi.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian dengan berjudul “Pengaruh *6-Benzylaminopurine* (BAP) Terhadap Induksi Tunas Jeruk Japansche Citroen (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) dengan Teknik TCL (*Thin Cells Layer*)” mulai dilaksanakan pada bulan Mei sampai bulan September 2019. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Jeruk dan Buah Sub Tropika (Balitjestro).

3.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk sterilisasi yaitu autoklaf, oven, sikat, spons, ember. Alat untuk membuat media antara lain kompor, timbangan analitik, panci, hotplate stirer, mikropipet, pH meter, gelas beaker, pengaduk, tabung erlenmeyer. Dan untuk sterilisasi media menggunakan autoklaf. Sterilisasi ruang tanam (LAF), alat yang dibutuhkan yaitu tisu dan hand sprayer. Proses insiasi membutuhkan alat antara lain LAF, bunsen, botol kultur, pinset, korek api, gunting, dan scalpel.

Bahan utama yang digunakan adalah kotiledon jeruk Japansche Citroen JC. Bahan yang digunakan untuk sterilisasi alat adalah alkohol 70%, alkohol 96%, aquades, api bunsen dan spirtus. Bahan yang digunakan untuk media adalah agar-agar, media MS, BAP, NAA, metionin, gula, air steril, vitamin, myoinositol, tisu. Sterilisasi media membutuhkan aluminium foil, plastik wrap, karet, dan air untuk mengisi autoklaf.

3.4 Langkah Kerja

3.4.1 Sterilisasi Ruang Tanam

1. Sterilisasi Ruangan Tanam

Lantai ruangan atau laboratorium dibersihkan dari debu dan disapu. Kemudian lantai dipel menggunakan desinfektan. Lantai disapu dan dipel setiap akan memulai kegiatan dan selesai melakukan kegiatan agar terjaga dalam kondisi yang steril.

2. Sterilisasi LAF

Sterilisasi LAF yaitu dengan menyalakan UV terlebih dahulu selama 30 menit sebelum digunakan. Setelah 30 menit, UV dimatikan, lampu dan blower dinyalakan. Bagian meja dan dinding LAF disemprot menggunakan alkohol 70% dan dilap dengan tisu. LAF siap untuk digunakan.

3. Sterilisasi Alat

Langkah kerja yang dilakukan untuk sterilisasi alat yaitu dengan merendam botol kultur dan cawan petri yang akan digunakan dalam bak yang sudah berisi air dan telah ditambahkan desinfektan (bayclin) sebanyak 200 ml (10 ml/L). Perendaman dilakukan selama 2 hari, kemudian botol dan cawan petri dibersihkan dari bekas selotip dan dicuci dengan sabun dan dibilas dengan air yang mengalir

sampai bersih dari sisa sabun. Botol yang sudah selesai dicuci, dibiarkan sampai kering dan di oven selama 10 menit. Setelah kering, cawan petri dimasukkan dalam plastik tahan panas dan diikat dengan karet lalu disterilisasi dengan autoklaf. Setelah proses sterilisasi selesai, botol dan cawan petri lalu disimpan ditempat penyimpanan.

3.4.2 Pembuatan Media

1. Media MS0 (Media Pendahuluan)

Pembuatan media MS0 pertama-tama dengan menyiapkan bahan yang akan digunakan diantaranya MS dengan takaran 4.33 gr/L, vitamin 2 ml/L dan myoinositol 250 mg/L, gula 30 gr/L dan agar-agar 13 gr/L. Masing-masing media ditimbang dan dimasukkan pada gelas beaker yang telah ditambahkan aquades kecuali agar-agar. Larutan media tersebut dihomogenkan dengan *hotplate stirrer*. Setelah semua bahan homogen, media dimasak sampai mendidih kemudian dimasukkan ke gelas beaker dan ditambahkan aquades sesuai dengan volume media yang akan dibuat. Kemudian dilakukan pengukuran pH menggunakan *pH meter* dengan pH 5,7 sampai 5,8. Setelah pH dipastikan sesuai, media ditambahkan agar-agar dan dimasak sampai mendidih sambil diaduk-aduk. Setelah mendidih, kemudian media dituang ke dalam botol kultur yang telah disiapkan dan ditutup dengan rapat. Setelah itu botol yang telah diisi media siap untuk disterilisasi menggunakan autoklaf.

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

Bahan yang akan digunakan dalam pembuatan media MS + TDZ yaitu gula 30 gr/L, MS 4,33 gr/L, vitamin 2 ml/L, myoinositol 250 mg/L, agar-agar 13 gr/L. Bahan-bahan tersebut ditimbang sesuai takaran yang dibutuhkan. Gula, MS,

myoinositol dan vitamin dilarutkan dengan aquades secukupnya dengan cara dihomogenkan menggunakan *hotplate stirrer*. Setelah homogen larutan media dimasak hingga mendidih dan dimasukkan ke dalam gelas beaker. Aquades ditambahkan sampai batas volume media yang akan dibuat. Pengukuran pH menggunakan *pH meter* sampai pH mencapai 5,7-5,8. Media dituang ke tabung erlenmeyer dan ditambahkan dengan agar-agar. Tabung erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil, plastik dan dirapatkan dengan karet gelang, terakhir dirapatkan lagi menggunakan plastik wrap. Kemudian media tersebut disterilisasi dengan autoklaf. Media yang telah disterilisasi, ditunggu sampai suhunya turun kemudian dimasukkan ke dalam LAF. Cawan petri, mikropipet dan larutan TDZ juga dimasukkan ke LAF. Setelah semua siap, tutup pada tabung erlenmeyer dibuka kemudian disterilkan bagian mulut erlenmeyer menggunakan pistol api atau *fire gun*. Larutan TDZ dengan konsentrasi 1 mg/L dimasukkan ke dalam media sebanyak 20 µL. Erlenmeyer ditutup dengan penutup yang sama kemudian dihomogenkan kembali menggunakan *hotplate stirrer*. Setelah homogen, media dimasukkan kembali ke LAF dan siap untuk dituang ke masing-masing cawan petri. Cawan petri yang sudah berisi media kemudian dirapatkan dengan plastik wrap, diberi label dan disimpan di tempat penyimpanan.

3. Media MS + BAP (Media Perlakuan)

Pembuatan media untuk perlakuan yaitu dengan penambahan konsentrasi BAP terdiri dari media MS dengan takaran 4,33 gr/L, vitamin sebanyak 2 ml/L, myoinositol sebanyak 0,25 gr/L, gula 30 gr/L, metionin 60 mg/l, NAA 0,025 mg/l atau sebanyak 0,5 ml dan agar-agar sebanyak 13 gr/L. Konsentrasi BAP yaitu 0,5 mg/L atau sebanyak 0,25 ml, 1 mg/L atau sebanyak 0,5 ml, 1,5 mg/L atau sebanyak

0,75 ml dan konsentrasi 2 mg/L larutan BAP yang diambil sebanyak 1 ml. BAP diambil dari stok BAP sebesar 1000 mg/L. Pada masing-masing perlakuan membuat media sebanyak 500 ml.

Masing-masing perlakuan diberi label dan dimasukkan ke dalam gelas beaker kecuali agar-agar kemudian ditambahkan aquades secukupnya dan dihomogenkan dengan *hotplate stirrer* secara bergiliran. Setelah semua media homogen, kemudian dimasak sampai mendidih dan ditambahkan aquades sampai batas volume media yang akan dibuat yaitu 500 ml. Media diukur menggunakan *pH meter*. Pengukuran media sampai pH menunjukkan angka 5,7-5,8. Setelah pH sesuai, masing-masing media perlakuan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang sudah ada agar-agarnya dan diberi label sesuai perlakuan. Media disterilisasi dengan autoklaf. Media yang telah disterilisasi, ditunggu sampai suhunya turun kemudian dimasukkan ke dalam LAF. Cawan petri juga dimasukkan ke LAF. Setelah semua siap, tutup pada tabung erlenmeyer dibuka kemudian disterilkan bagian mulut erlenmeyer menggunakan pistol api atau *fire gun*. Kemudian media siap untuk dituang ke masing-masing cawan petri. Kemudian cawan petri dirapatkan menggunakan plastik wrap, diberi label pada masing-masing perlakuan dan disimpan di tempat penyimpanan.

3.4.3 Persiapan Bahan Tanam dan Penanaman

1. Sterilisasi Jeruk JC

Buah jeruk yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu dengan cara menyikat kulit buah jeruk JC sampai bersih. Kemudian dicuci menggunakan sabun dan dibilas dengan air yang mengalir. Kemudian buah jeruk diangin-anginkan supaya kering dan selanjutnya jeruk dimasukkan ke dalam LAF.

2. Eksplanting Jeruk JC

Alat dan bahan yang dibutuhkan dalam proses ekplanting biji jeruk dimasukkan ke dalam LAF. Jeruk yang telah dicuci dan dikeringkan juga dimasukkan ke dalam LAF. Eksplanting dimulai dengan meletakkan buah jeruk satu per satu diatas cawan petri steril dan disemprot menggunakan alkohol 96%. Jeruk yang telah disemprot kemudian dibakar secara merata agar penyakit ataupun bakteri yang masih menempel pada kulit jeruk hilang. Setelah itu bagian tengah buah jeruk diiris secara melingkar. Biji-biji yang terdapat didalam buah jeruk diambil menggunakan pinset dan ditanam dalam media MS0. Biji jeruk yang ditanam pada media MS0 ini bertujuan untuk memastikan biji jeruk tersebut tidak terkontaminasi bakteri ataupun jamur. Kemudian biji-biji tersebut diinkubasi selama 4 hari.

3. Penanaman pada media MS0+TDZ (Pre-Treatment)

Biji jeruk yang telah diinkubasi pada media MS0 selama 4 hari, disubkulturkan ke media MS0 dengan penambahan 1 mg/L TDZ (pre-treatment). Penanaman pada media TDZ ini bertujuan untuk memacu kerja jaringan tumbuhan sebelum dilakukan penanaman pada media perlakuan. Cara kerja yang dilakukan pada media MS+1 mg/L TDZ yaitu kulit biji jeruk dikupas terlebih dahulu sehingga tinggal bagian kotiledonnya. Kotiledon jeruk JC kemudian ditanam pada media MS+1 mg/L TDZ dan diinkubasi selama 4 hari.

4. Penanaman pada Media Perlakuan dengan Teknik Thin Cells Layer

Kotiledon jeruk JC yang sudah ditanam pada media MS+1 mg/L TDZ selama 4 hari, di subkultur ke media perlakuan dengan berbagai konsentrasi BAP. Penanaman tersebut dilakukan dengan cara kotiledon yang telah ditanam pada media MS+1 mg/L TDZ selama 4 hari dan dipastikan tidak terkontaminasi oleh

bakteri ataupun jamur dipisahkan dari embrio zigotiknya dan kotiledon tersebut dipotong menggunakan teknik Thin Cells Layer (TCL) dengan ukuran 1 mm dan ditanam pada media perlakuan. Tiap unit percobaan berisi 28 potongan kotiledon yang berasal dari 4 kotiledon (2 biji). Dan disimpan di ruang inkubasi selama 90 hari dan dilakukan pengamatan.

3.5 Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu antara lain:

1. Hari Muncul Tunas

Pengamatan hari muncul tunas dilakukan setiap hari setelah proses penanaman hingga saat muncul tunas pertama ditandai dengan adanya tonjolan kehijauan pada permukaan eksplan dan berukuran 1 mm.

2. Jumlah Tunas

Pengamatan jumlah tunas diamati pada saat akhir pengamatan (90 HST) dengan menghitung berapa jumlah tunas yang terbentuk.

3. Panjang Tunas

Pengamatan panjang tunas dilakukan dengan mengukur panjang tunas menggunakan penggaris dan dilakukan pada akhir pengamatan (setelah 90 hari inkubasi).

4. Berat Eksplan

Berat eksplan diamati pada pengamatan terakhir (setelah 90 hari) yakni berupa berat dari eksplan yang tumbuh dan kemudian dipisahkan dari media.

Eksplan ditimbang beratnya dalam LAF.

5. Morfologi Eksplan

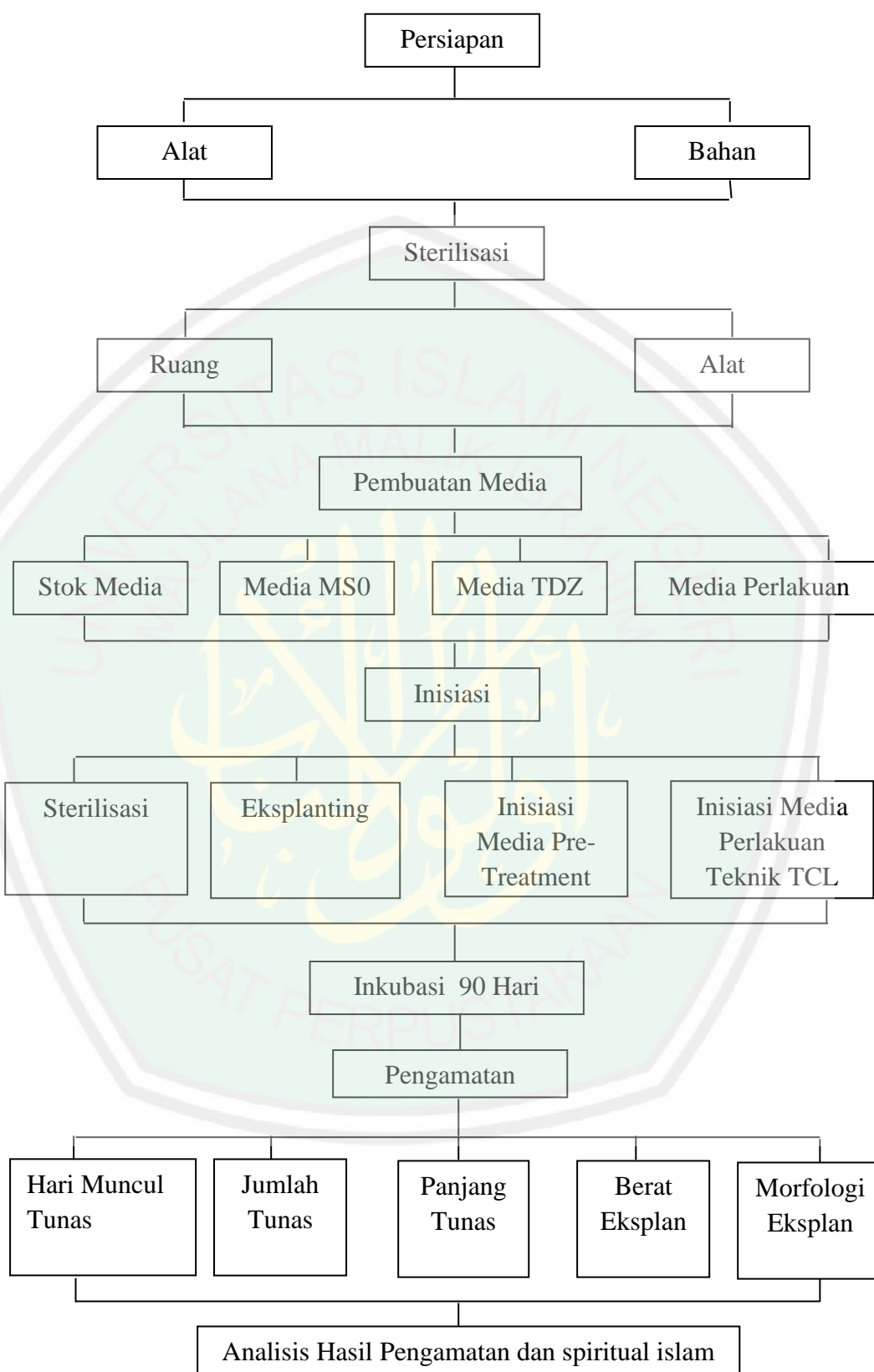
Pengamatan morfologi eksplan meliputi perkembangan eksplan dari berupa kalus, calon tunas hingga tumbuh tunas yang terdiri dari fase globular, heart dan torpedo.

3.6 Analisis Data

Data hasil pengamatan yang telah diperoleh, dianalisis menggunakan *Analysis of Varian* (ANOVA). Jika sidik ragam memberikan pengaruh yang nyata, selanjutnya dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf α 5%. Dan juga dilakukan analisis regresi untuk mengetahui beda antar perlakuan yang digunakan untuk mendapatkan konsentrasi BAP yang optimum.

Data hasil pengamatan juga dianalisis berdasarkan nilai spiritual dan nalar dalam islam. Analisis tersebut diintegrasikan dengan ayat Al-Qur'an dan Hadist yang sesuai dengan hasil penelitian sehingga didapatkan kesimpulan mengenai manfaat-manfaat dari penelitian yang bersifat ilmiah dan berdasarkan nilai-nilai keislaman.

3.7 Desain Penelitian



Gambar 3.1 Langkah Kerja

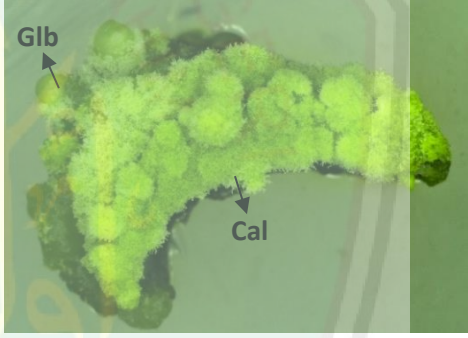
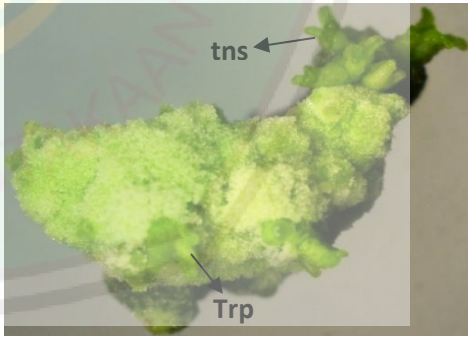
BAB IV

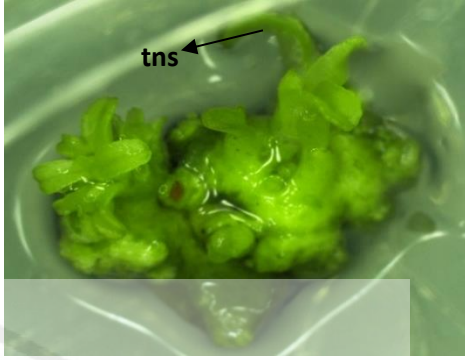
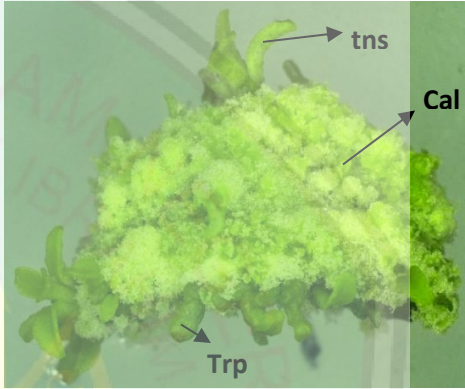

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengamatan Morfologi dan Anatomi Pertumbuhan Eksplan Jeruk JC

Hasil pengamatan morfologi dan anatomi pertumbuhan eksplan jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.) disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Fase-Fase Pertumbuhan Eksplan jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).

No	Perlakuan	Fase			Gambar
		Kalusa	Calon Tunas	Tunas	
1	BAP 0	+++	+	-	
2	BAP 0,5	+++	+	+	

3	BAP 1	-	-	+++	
4	BAP 1,5	+++	+	++	
5	BAP 2	+++	++	-	

Keterangan : (-) Tidak Ada, (+) Sedikit, (++) Banyak, (+++) Sangat Banyak.

Gambar eksplan pada tabel 4.1 diatas merupakan perwakilan eksplan jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.) pada hari terakhir 90 HST. Berdasarkan pengamatan morfologi dan anatomi terlihat pertumbuhan eksplan pada fase-fase tertentu. Pertumbuhan yang terjadi pada perlakuan tersebut terdiri atas kalus, calon tunas dan tunas. Pada perlakuan dengan konsentrasi BAP 0 mg/L menunjukkan adanya

pertumbuhan kalus dan dengan beberapa calon tunas yang telah tumbuh. Namun pada perlakuan tersebut tidak terlihat adanya pertumbuhan tunas.

Selanjutnya pengamatan pada konsentrasi BAP 0,5 mg/L pertumbuhan kalus sangat banyak dan diikuti oleh pertumbuhan beberapa calon tunas dan tunas. Pada pengamatan BAP konsentrasi 1 mg/L tidak terlihat adanya pertumbuhan kalus dan calon tunas, namun pada eksplan tersebut telah tumbuh tunas. Hal ini diketahui bahwa peningkatan BAP hingga 1 mg/L dapat meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk. Sedangkan penambahan BAP dengan konsentrasi 1,5 mg/L dan 2 mg/L menunjukkan adanya pertumbuhan kalus, dengan beberapa pertumbuhan calon tunas dan tunas. Calon tunas yang tumbuh pada eksplan tersebut berada pada tahap torpedo.

Terdapat dua jenis embriogenesis, yaitu embriogenesis zigotik dan embriogenesis somatik. Menurut Zulkarnain (2009) dan Manuhara (2014) embriogenesis zigotik dan embriogenesis somatik memiliki tahapan perkembangan yang sama yaitu bulat (globular), jantung (heart), torpedo, dan akhirnya berkecambah menjadi planlet. Tahap globular merupakan kumpulan besar sel yang belum memiliki embrio, selanjutnya tahap heart dengan terbentuknya 3 lobus dimana kotiledon awal dipisahkan dari kutub akar dan tahap torpedo merupakan perpanjangan dari tahap heart dan setelah itu akan bertumbuh menjadi planlet yaitu benih kecil dengan akar dan tunas utama.

Perlakuan pada gambar diatas terlihat bahwa konsentrasi BAP 1 mg/l memiliki bentuk tunas yang lebih besar dibandingkan dengan perlakuan lain. Akan tetapi pada perlakuan dengan konsentrasi BAP 1,5 mg/l dan 2 mg/l menunjukkan pertumbuhan kalus embrio pada fase torpedo dengan masa yang lebih banyak. Masa

kalus ini akan membentuk tunas dengan jumlah yang lebih banyak apabila segera disubkultur pada media baru yang masih kaya nutrisi. Pada perlakuan BAP 1 mg/L masa kalus embrio seperti ini tidak terbentuk dimungkinkan karena keseimbangan jumlah BAP dengan metionin belum terpenuhi.

Bentuk pertumbuhan tersebut sangat khas pada berbagai penggunaan metionin dalam induksi tunas. Hasil penelitian Ariantika (2018) metionin yang digunakan pada kultur jaringan tumbuhan pada jeruk Japansche Citroen (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) jumlah tunas yang dihasilkan tumbuh lebih banyak dan mampu menginduksi tunas organogenesis repetitif pada hasil pengamatan bulan ke 5.

Tingginya tunas yang dihasilkan disebabkan karena adanya jumlah dan keseimbangan antara hormon yang terdapat pada tanaman (endogen) dan hormon yang ditambahkan (eksogen) pada media tanam terdapat kesesuaian sehingga mampu mendorong pembentukan dan pertumbuhan tunas. Selain itu, BAP mengandung gugus benzyl sehingga lebih dapat merangsang inisiasi dan pertumbuhan tunas baru melalui peningkatan pembelahan sel (Rasud, 2017).

Secara umum pemberian ZPT pada media tanam dapat membantu meningkatkan pertumbuhan tanaman. Perimbangan dan juga interaksi antara ZPT yang diberikan dan yang diproduksi secara endogen akan menentukan arah perkembangan suatu kultur jaringan. Tanaman yang berbeda akan merespon ZPT (auksin dan sitokinin) dalam berbagai konsentrasi yang berbeda. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan kandungan konsentrasi hormon endogen tumbuhan itu sendiri.

4.2 Pengaruh Konsentrasi BAP terhadap Induksi Tunas Jeruk JC.

Ringkasan hasil analisis varian (ANOVA) pengaruh BAP terhadap induksi tunas jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.) disajikan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Ringkasan hasil ANOVA pengaruh BAP terhadap induksi tunas jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.)

Variabel Pengamatan	F Hitung	F Tabel 5 %
Waktu Muncul Tunas	210.484*	2,87
Jumlah Tunas	48.074*	2,87
Panjang Tunas	147.859*	2,87
Berat Eksplan	20.660*	2,87

Keterangan : * Pemberian BAP berpengaruh nyata terhadap variable pengamatan

Berdasarkan hasil ANOVA menunjukkan bahwa F hitung variabel hari muncul tunas, jumlah tunas, panjang tunas dan berat eksplan lebih besar dari F tabel, ini berarti bahwa penambahan BAP berpengaruh nyata terhadap variabel yang diamati. Hal tersebut telah diketahui sebelumnya bahwa sitokinin berperan penting dalam pembelahan sel dan pembentukan tunas. Salah satu jenis sitokinin yang banyak digunakan dalam kultur jaringan adalah BAP. Berbagai penelitian kultur jaringan telah membuktikan bahwa BAP berpengaruh nyata pada pembentukan tunas diantaranya pada *Citrus limonia* Osbeck (Jajoo, 2009), *Citrus sinensis* L. (Rasud, 2015) dan jeruk Tawangmangu (Samanhudi, 2010).

Beda antar perlakuan sebagai pengaruh dosis pemberian BAP terhadap induksi tunas jeruk dapat diketahui melalui uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Ringkasan hasil uji DMRT 5% disajikan pada tabel 4.2.

Tabel 4.3 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh BAP terhadap induksi tunas jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.) pada 90 HST.

Konsentrasi BAP (mg/L)	Waktu Muncul Tunas (HST)	Jumlah Tunas	Panjang Tunas	Berat Eksplan
0	90 e	0 a	0 a	0,012 a
0,5	68,2 c	2,8 b	0,75 c	0,021 b
1	57,75 a	6,05 d	1,35 e	0,031 c
1,5	63,9 b	3,85 c	1 d	0,026 b
2	73,75 d	2 b	0,59 b	0,014 a

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

Hasil DMRT 5% menunjukkan bahwa hasil terbaik pada semua variabel pengamatan terdapat pada perlakuan BAP 1 mg/L. Variabel pengamatan waktu muncul tunas menunjukkan pertumbuhan tercepat yaitu 57,75 HST. Berdasarkan penelitian (Rasud, 2015) pada kultur kotiledon jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) pemberian BAP 1,0 ppm diperoleh saat muncul tunas paling cepat yaitu 6 minggu setelah tanam. Penelitian Muliati (2017) menyatakan bahwa BAP 1 mg/l mampu menginduksi tunas *Sansevieria macrophylla* dengan waktu 82 HST. Zat pengatur tumbuh BAP dengan konsentrasi yang tepat efektif dalam penggandaan tunas karena penambahan BAP dalam media kultur jaringan berperan aktif dalam organogenesis secara alami. BAP merupakan salah satu golongan sitokinin yang

dapat menginduksi tunas namun konsentrasinya tergantung pada jenis tanaman (George dan Serrington, 1984).

Zat pengatur tumbuh BAP merupakan salah satu dari jenis sitokinin sintetis yang dapat memacu dalam pembelahan sel hal ini dapat dilihat berdasarkan penelitian ini bahwa dengan penambahan sitokinin saja dapat menginduksi tunas jeruk JC. Wattimena (1992) menambahkan bahwa induksi tunas hanya memerlukan sitokinin dalam jumlah optimum tanpa pemberian auksin dalam konsentrasi rendah.

Hasil DMRT 5% pada variabel jumlah tunas menunjukkan bahwa, konsentrasi BAP 1 mg/l mampu menginduksi jumlah tunas jeruk JC terbaik dengan rata-rata jumlah tunas 6,05 tunas per eksplan. Hasil penelitian ini serupa dengan hasil penelitian Rasud (2015) pada kultur kotiledon jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) pemberian BAP 1 mg/l diperoleh jumlah tunas terbanyak yaitu 2,12 tunas per eksplan. Penelitian Mukhtar *et al.* (2005) pemberian BAP dengan konsentrasi 1 mg/l menghasilkan persentase tunas tertinggi pada *Citrus reticulata*.

Tunas merupakan bentuk totipotensi sel-sel yang berdiferensiasi dan terjadinya organogenesis. Tunas yang tumbuh pada eksplan menjadi fase respon perkembangan eksplan akibat dari perlakuan saat melakukan kultur dan menjadi pengaruh terhadap pelakuan yang diberikan untuk beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap (Hendaryono & Wijayani, 2012). Pembentukan tunas merupakan salah satu indikator keberhasilan dalam kultur jaringan.

Hasil DMRT 5% pada variabel panjang tunas menunjukkan bahwa, konsentrasi BAP 1 mg/l mampu menginduksi panjang tunas jeruk JC terbaik dengan rerata panjang tunas 1,35 cm. Berdasarkan hasil penelitian Hidayati (2014) BAP 1 mg/l mampu memicu pemanjangan tunas pada jeruk siam (*Citrus nobilis*

Lour.) asal kampar dengan panjang tunas 0,90 cm. Hasil penelitian Miah et al (2008) BAP 1 mg/l menjadi konsentrasi terbaik untuk pengamatan panjang tunas dan persentase keberhasilan tumbuh pada *Citrus macroptera* Mont. Harahap, et al. (2014) menyebutkan bahwa panjang tunas secara signifikan dipengaruhi oleh interaksi kombinasi BAP dengan tipe eksplan. Setiap eksplan memiliki pertumbuhan panjang tunas yang berbeda dimungkinkan karena penyerapan hara dan kemampuan regenerasi tiap eksplan yang berbeda.

Akumulasi antara hormon endogen dan hormon eksogen yang ditambahkan dalam media dapat mempengaruhi panjang tunas yang tumbuh. Menurut Nisak (2012) hormon endogen dapat memacu sel tumbuh dan berkembang, akan tetapi jumlah hormon yang tersedia tidak tersedia secara pasti, maka menurut Gunawan (1988) penambahan hormon eksogen akan berpengaruh terhadap jumlah dan kerja hormon endogen untuk mendorong pertumbuhan dan perkembangan eksplan.

Hasil DMRT 5% pada variabel berat eksplan menunjukkan bahwa, konsentrasi BAP 1 mg/l mampu menghasilkan berat eksplan tertinggi dengan rata-rata berat eksplan 0,031 mg. Hasil tersebut berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, sehingga perlakuan BAP 1 mg/l menjadi konsentrasi yang paling efektif. Hal ini serupa dengan penelitian Corina (2014) bahwa berat basah tertinggi pada kultur biji jeruk siam seed (*Citrus nobilis* var. *Microcarpa*) berada pada konsentrasi BAP 1 mg/l yaitu sebesar 0,2 gram.

Sesuai hasil DMRT 5% memberikan hasil terbaik pada semua variabel pengamatan yaitu hari muncul tunas, jumlah tunas, panjang tunas dan berat eksplan. Pemberian konsentrasi BAP 1 mg/l mampu meningkatkan pertumbuhan tunas yang terbentuk, pada konsentrasi BAP yang lebih rendah (0 mg/l dan 0,5 mg/l) atau

konsentrasi yang lebih tinggi (1,5 mg/l dan 2 mg/l) cenderung menyebabkan penurunan pertumbuhan tunas. Hal ini karena penyerapan yang terlalu banyak atau terlalu sedikit menyebabkan keseimbangan hormon endogen pada tanaman berubah. Krikorian (1995) dalam Imran (2005) menjelaskan bahwa zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam media sebagian akan masuk ke dalam sel tanaman melalui proses difusi atau melalui penyerapan aktif. Zat pengatur tumbuh eksogen yang masuk akan mengubah keseimbangan hormon dalam tubuh tanaman. Untuk memacu pertumbuhan, zat pengatur tumbuh dalam tubuh tanaman harus berada pada konsentrasi tertentu.

Sitokinin merupakan hormon yang dapat memberikan pengaruh terhadap munculnya tunas. Menurut Yusnita (2003) jenis sitokinin yang sering digunakan dalam merangsang pembentukan tunas adalah BAP. Sitokinin dapat mempengaruhi gen KNOX (Knotted Like Homeobox). Gen KNOX ini mengkode suatu protein yang berfungsi memacu pertumbuhan dan pemeliharaan meristem ujung batang supaya sel-selnya selalu aktif membelah (Wijayani, 2007).

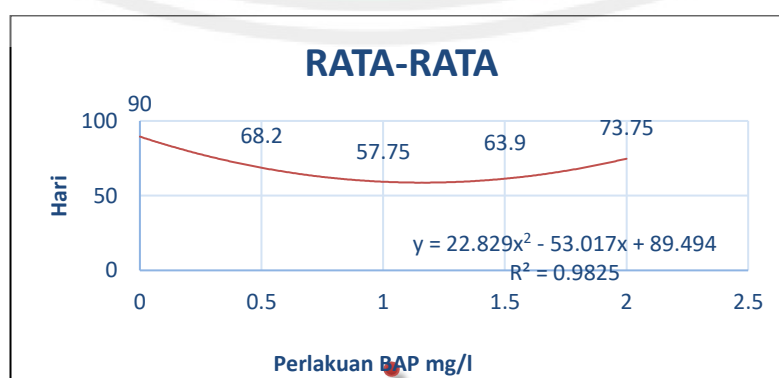
Penambahan zat pengatur tumbuh BAP pada media kultur jaringan menunjukkan adanya respon jaringan terhadap tumbuhnya tunas jeruk JC. Menurut Lakshmana (2000) fungsi BAP pada kultur jaringan adalah proliferasi sel secara massal. Campbell (2000) sitokinin berupa BAP berpengaruh positif pada perkembangan eksplan.

Sitokinin berperan dalam pembelahan sel dengan cara meningkatkan laju sintesa protein. Menurut Kasli (2009), sitokinin memacu peningkatan jumlah sel dengan cara berikatan pada reseptor protein yang terdapat pada membran plasma sel target (sel meristematik). Peran zat pengatur tumbuh dalam pembelahan sel

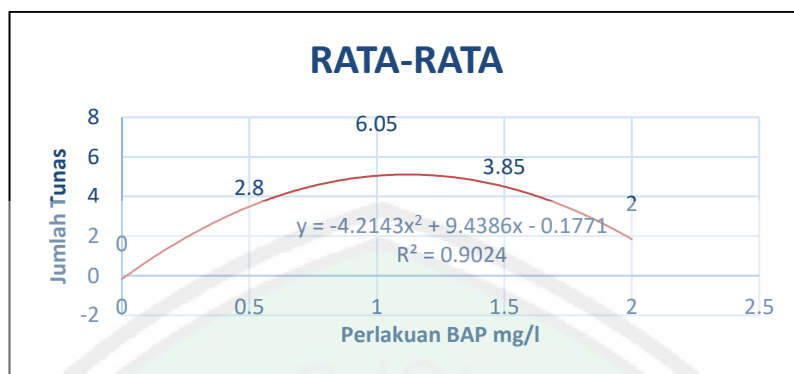
yaitu mempercepat transisi dari fase G1 (Gap 1) ke fase S (Sintesis) dan transisi dari fase G2 (Gap 2) ke M (Mitosis) dalam siklus sel. Sitokinin juga berperan dalam meningkatkan pembentukan RNA, meningkatkan afinitas ribosom sebagai cetakan, meningkatkan afinitas mRNA terhadap ribosom, meningkatkan rasio piliribosom-monosom yang semuanya itu akan bermuara pada peningkatan sintesa protein yang diperlukan dalam pembelahan sel (Ordas 1992, Jacobs 1992).

Peran sitokinin dalam sintesa protein yaitu berperan pada proses transkripsi dan translasi RNA yang berlangsung pada tahap interfase. Proses translasi RNA kemudian dilanjutkan dengan pembentukan asam amino yang merupakan komponen dasar protein. Protein yang terbentuk berupa enzim-enzim yang berfungsi dalam pembelahan sel. Enzim-enzim tersebut yaitu enzim polymerase DNA yang berfungsi dalam memperpanjang rantai DNA dan memperbaiki kesalahan penyusunan basa nitrogen pada DNA. Kemudian enzim ligase yang berperan menggabungkan fragmen-fragmen DNA yang terputus-putus ketika proses replikasi. Adanya enzim polymerase dan ligase di dalam sel akan menjadikan proses pembelahan sel dapat berlangsung efektif (Hayati, 2010).

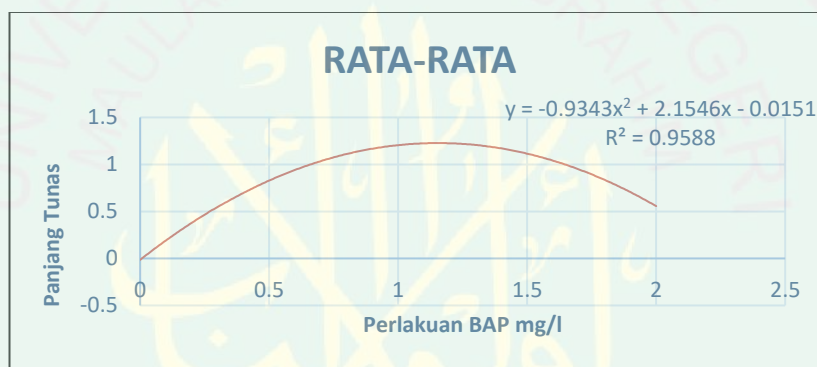
Konsentrasi optimum dari BAP yang dapat meningkatkan induksi tunas jeruk JC berada pada kisaran konsentrasi 1 mg/l. Hasil ini berdasarkan analisis regresi yang disajikan pada gambar 4.1 sampai dengan 4.5.



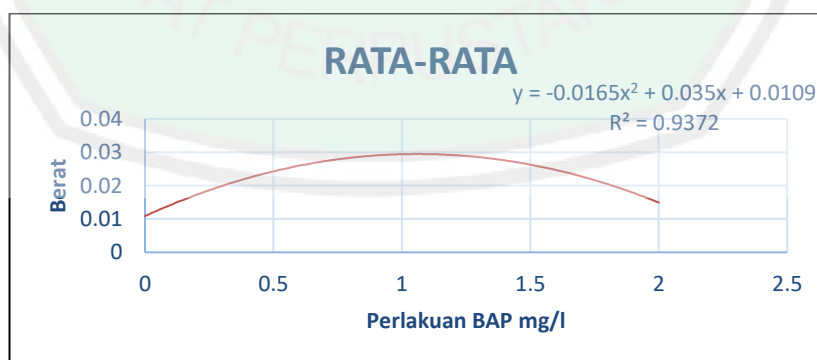
Gambar 4.1 Kurva Regresi Pengaruh BAP terhadap Hari Muncul Tunas Jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.)



Gambar 4.2 Kurva Regresi Pengaruh BAP terhadap Jumlah Tunas Jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).



Gambar 4.3 Kurva Regresi Pengaruh BAP terhadap Panjang Tunas Jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).



Gambar 4.4 Kurva Regresi Pengaruh BAP terhadap Berat Eksplan Jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.).

Pengamatan hari muncul tunas dilakukan dengan mengamati pada hari ke berapa tumbuhnya tunas setelah eskplan ditanam dalam media perlakuan. Berdasarkan grafik regresi didapatkan persamaan $y = 22,829x^2 - 53,017 + 89,494$ dengan nilai koefisien determinasi $R^2 = 0,9825$ yang artinya hubungan antara pemberian BAP dengan hari muncul tunas yaitu sebesar 98,25%. Pada analisis deferensial persamaan tersebut diperoleh titik balik terendah pada koordinat (1,16 ; 58,714) yang artinya pertumbuhan tunas tercepat dengan menggunakan konsentrasi BAP sebesar 1,16 mg/l dengan rata-rata hari muncul tunas tercepat adalah 58,714 HST. Sesuai dengan penelitian Rasud (2015) Hari muncul tunas tercepat pada jeruk manis (*Citrus sinensis* L) terdapat pada komposisi media yang ditambahkan BAP 1 mg/l dengan rata-rata 3,40 hari.

Berdasarkan hasil analisis regresi menunjukkan hubungan antara konsentrasi BAP terhadap jumlah tunas yang didapatkan rumus regresi kuadratik $y = -4,2143x^2 + 9,4386x - 0,1771$ dan koefisien determinasi $R^2 = 0,9024$, artinya hubungan antara penambahan zat pengatur tumbuh BAP terhadap jumlah tunas yaitu sebesar 90,24%. Analisis deferensial persamaan tersebut diperoleh titik optimum pada koordinat (1,11 ; 5,107) yang artinya konsentrasi optimum dengan jumlah tunas terbanyak pada konsentrasi 1,11 dengan rata-rata jumlah tunas 5,107 tunas per eksplan. Hal ini sesuai dengan penelitian Rahmahayu (2014) bahwa BAP 1 mg/l merupakan konsentrasi terbaik dalam menghasilkan jumlah tunas pada jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour) asal Kampar.

Hasil analisis regresi pada panjang tunas membentuk pola persamaan kuadratik $y = -0,9343x^2 + 2,1546x - 0,0151$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,9588$, artinya hubungan antara penambahan BAP terhadap panjang tunas yaitu

sebesar 95,88%. Analisis diferensial persamaan tersebut diperoleh titik optimum pada koordinat (1,15 ; 1,22) yang artinya konsentrasi optimum dengan panjang tunas tertinggi pada konsentrasi 1,15 dengan rata-rata panjang tunas 1,22 cm. Pada penelitian Hidayati (2014) Panjang tunas tertinggi juga terdapat pada konsentrasi BAP 1 mg/l dengan panjang tunas 0,90 cm pada jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour.) asal kampar.

Hasil analisis regresi pada variabel berat eksplan membentuk pola persamaan kuadrat $y = -0,0165x^2 + 0,035x + 0,0109$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,9372$, artinya hubungan antara penambahan BAP terhadap berat eksplan yaitu sebesar 93,72%. Analisis diferensial persamaan tersebut diperoleh titik optimum pada koordinat (1,06 ; 0,0295) yang artinya konsentrasi optimum dengan berat eksplan tertinggi pada konsentrasi 1,06 dengan rata-rata berat eksplan 0,0295. Penelitian Corina (2014) menghasilkan berat basah tertinggi pada kultur biji jeruk siam seed (*Citrus nobilis* var. *Microcarpa*) pada konsentrasi BAP 1 mg/l yaitu sebesar 0,2 gram.

4.3 Dialog Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Tumbuhan merupakan salah satu ciptaan Allah yang memiliki banyak manfaat. Peran tumbuhan untuk makhluk hidup sangat besar baik digunakan untuk sandang, pangan dan papan. Selain itu pemanfaatan tumbuhan juga sebagai obat-obatan yang dapat membantu kelangsungan hidup manusia. Seiring berjalannya waktu, manfaat tumbuhan sebagai obat banyak ditemukan oleh manusia. Setiap jenis tumbuhan memiliki zat tertentu yang berbeda dapat digunakan untuk menyembuhkan suatu penyakit atau dapat bermanfaat sebagai obat. Disebutkan dalam hadist riwayat Abu Hurairah r.a, bahwa Rasulullah SAW bersabda :

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya : *“Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia juga menurunkan penawarnya.”* (HR. Ibnu Majah).

Hadist tersebut menjelaskan wujud dari kesempurnaan rahmat Allah SWT kepada hambanya bahwa segala penyakit yang ada di bumi ini diturunkan beserta obatnya bagi mereka yang berfikir dengan keimanannya (Farooqi, 2005). Kata berfikir tidak akan lepas dengan pengetahuan, dimana dengan pengetahuan tersebut segala permasalahan yang terjadi dapat berubah menjadi rizki. Banyak dari jenis tanaman dapat digunakan sebagai obat seperti buah jeruk yang digunakan dalam penelitian ini. Kandungan vitamin C pada jeruk sebagai antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas dan juga dapat mencegah beberapa penyakit seperti jantung, kanker dan penuaan dini.

Kebutuhan akan vitamin C pada masyarakat menjadi sangat penting saat ini, karena banyaknya penyakit yang menyerang sehingga vitamin C sangat penting untuk menjaga sistem kekebalan tubuh. Buah jeruk yang menjadi sumber vitamin C paling banyak, akhir-akhir ini mengalami penurunan produktivitasnya. Hal ini dikarenakan banyak faktor, diantaranya lahan produksi semakin berkurang, banyaknya serangan virus, hama dan penyakit yang terjadi di lahan perkebunan.

Ketersediaan bibit unggul yang masih relatif sedikit, disebabkan karena pengolahan kebun jeruk yang tidak optimal, sehingga mutu buah yang dihasilkan kurang memuaskan. Akibat dari penurunan kualitas bibit tersebut, banyak dari masyarakat yang harus melakukan impor jeruk.

Karena manfaatnya yang cukup besar dan untuk mengatasi permasalahan tersebut, maka dilakukannya perbanyakan bibit jeruk sehingga akan menghasilkan buah dengan kualitas yang baik. Dan dilakukanlah penelitian ini yang bertujuan untuk perbanyakan atau budidaya jeruk.

Penelitian ini dilatar belakangi oleh adanya permasalahan dalam permintaan stok batang bawah yang sangat tinggi. Perbanyakan batang bawah secara generatif memiliki beberapa kekurangan diantaranya akan membutuhkan waktu yang lama, membutuhkan biji yang relatif lebih banyak yang digunakan sebagai benih, dan sempitnya lahan yang akan digunakan. Dengan adanya hal tersebut manusia sebagai khalifah harus memiliki suatu tuntunan untuk mengatasinya sebagai wujud syukur kepada Allah SWT dan sebagai wadah dalam mengembangkan ilmu pengetahuannya.

Kultur jaringan merupakan salah satu cara yang dapat digunakan dalam penyelesaian masalah kendala dalam perbanyakan tanaman. Media tanam yang digunakan dalam metode kultur jaringan ini dapat disesuaikan dengan kondisi lingkungan (tanah) yang mengandung unsur hara mikro, sehingga tanaman yang ditanam pada media kultur jaringan dapat tumbuh dengan baik karena mendapatkan nutrisi yang cukup. Sebagai firman Allah dalam Surat Al-A'raf ayat 58 sebagai berikut:

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا نَكِدًا، كَذَلِكَ نُصَرِّفُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ﴿٥٨﴾

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

Menurut Tafsir Ibnu Katsir (2007) yang dimaksud tanah yang subur ialah tanah yang dapat menumbuhkan tumbuhan dengan subur dan dibantu oleh air hujan. Sedangkan yang dimaksud dengan tanah yang tidak subur atau tanah yang tidak baik adalah tanah yang belum siap untuk ditanami sehingga tidak dapat menumbuhkan sesuatu yang bermanfaat. Berdasarkan makna ayat tersebut dapat diketahui bahwa tanah yang baik atau subur yaitu tanah yang memiliki kandungan komposisi unsur yang lengkap seperti adanya unsur hara makro dan mikro sehingga dapat menumbuhkan tanaman dengan baik. Kecukupan nutrisi tersebut juga diterapkan pada kultur jaringan *in vitro* sehingga kandungan yang terdapat didalamnya sama dengan yang terkandung dalam tanah yang subur

Kultur In Vitro merupakan teknik dari penemuan manusia yang digunakan untuk memperbanyak tumbuhan. Teknik ini dilakukan dengan cara menambahkan komposisi yang disamakan dengan kondisi dialam, yaitu dengan adanya penambahan nutrisi, unsur hara baik makro maupun mikro dan zat pengatur tumbuh. Umumnya media yang digunakan sebagai media pengganti tanah yaitu media Murasige & Skoog (MS).

Penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) dalam kultur jaringan merupakan hal yang penting untuk dilakukan. Ketepatan kadar ZPT yang ditambahkan dalam media akan mempengaruhi pertumbuhan suatu eksplan karena kebutuhan masing-masing tanaman untuk tumbuh secara optimal berbeda-beda. Seperti yang telah dijelaskan oleh Armini (1992) bahwa konsentrasi yang dibutuhkan dari setiap zat pengatur tumbuh tergantung dari jenis genotip, eksplan, kondisi kultur serta jenis zat pengatur tumbuh. Hal tersebut telah dijelaskan dalam Al-Quran surah Al-Qamar ayat 49 sebagai berikut:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

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

Ayat tersebut menjelaskan bahwa segala sesuatu yang telah Allah ciptakan sesuai dengan ukuran dan kadarnya masing-masing. Hal ini berkaitan dengan penggunaan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk pertumbuhan tunas jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.). Penelitian ini menggunakan pengatur tumbuh BAP dan berdasarkan hasil penelitian didapatkan konsentrasi terbaik (optimal) untuk menginduksi tunas jeruk JC adalah BAP 1 mg/l, dimana konsentrasi tersebut memiliki hasil pertumbuhan tunas terbaik dibandingkan dengan konsentrasi yang lain. Penambahan BAP lebih rendah atau lebih tinggi menyebabkan penurunan pada pertumbuhan tunas jeruk JC. Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi yang tepat akan menghasilkan pertumbuhan tunas yang optimal.

Manusia sebagai khalifah di bumi memiliki tugas untuk menjaga kelestarian lingkungan sehingga menjadikan kehidupan di bumi ini menjadi lebih stabil. Mengatasi berbagai masalah terkait kelestarian alam dengan merawat, melestarikan, serta memecahkan masalah yang terjadi di bumi sehingga akan tercipta kemakmuran dan kesejahteraan di bumi. Oleh karena itu manusia yang memiliki akal sehat untuk berfikir agar dapat memanfaatkan potensi alam sebagai sebuah kearifan lokal (*local wisdom*) bagi manusia itu sendiri dengan cara memanfaatkan metode kultur jaringan tumbuhan. Dengan hasil yang diperoleh dari penelitian ini semoga dapat meningkatkan keimanan dan ketaqwaan kepada Allah SWT.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis data tentang penelitian pengaruh pemberian BAP terhadap induksi tunas dari eksplan biji jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.) secara *in vitro* dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian BAP berpengaruh terhadap morfologi dan anatomi eksplan jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.) yang tumbuh, perlakuan BAP 1 mg/L menunjukkan morfologi tunas paling baik.
2. Zat pengatur tumbuh BAP berpengaruh nyata terhadap induksi tunas jeruk JC (*Citrus limonia* Osbeck.) meliputi hari muncul tunas, jumlah tunas, panjang tunas dan berat eksplan dan konsentrasi optimum dari BAP yaitu 1 mg/L.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya diharapkan :

1. Konsentrasi BAP 1,5–2 mg/L dapat direkomendasikan untuk dilanjutkan dengan mensubkultur pada media yang baru sehingga menghasilkan tunas yang lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1983. *Dasar-Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Angkasa.
- Aeni, N., Syafrullah, S, Miftah, D.S. 2017. Cara Perbanyak Vegetatif Dan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Pertumbuhan Tunas Pada Tanaman Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle). *Jurnal Ilmu Pertanian dan Peternakan*. 5(2).
- Ahloowalia, B.S., dan V.A. Savangikar. 2002. Low Cost Option For Energy and Labour: Low Cost Option for Tissue Culture Technology in developing Countries, In: *Proc Internal Atomic Agency*. P. 41-4
- Al Maraghi, AM. 1992. *Terjemah Tafsir Al Maraghiy*. Semarang: Tohaputra.
- Al Qarni, A. 2007. *At-Tafsir Al Muyassar*. Qisthi Press. Jakarta.
- Ariantika, D.A. 2018. Pengaruh Konsentrasi Metionin Terhadap Organogenesis Somatik Repetitif Jeruk Japansche Citroen (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) Dengan Teknik TCL (*Thin Cell Layer*). Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki. Malang. Skripsi.
- Ayu, Y.P.K., Arry,S., Mudji, S., dan Lilik, S. 2017. Studi Poliembrioni pada Benih Batang Bawah Jeruk Japansche Citroen (JC). *Jurnal Produksi Tanaman*. 5(9).
- Azriati, E., Ameliza dan Nelfa, Y. 2010. Respon Regenerasi Eksplan Kalus Kedelai (*Glycine max*) terhadap Pemberian NAA secara In Vitro. *Jurnal Littri*. 11(2).
- Beyl, C.A. 2005. Getting started with tissue culture: media preparation, sterile technique, and laboratory equipment. In Trigiano, R.N. dan D.J. Gray (eds.) *Plant development and biotechnology*. CRC Press. New York. P. 11–37.
- Chamandoosti, F. 2017. Effect of interaction between different plant growth regulators on in vitro shoot multiplication of *Citrus latifolia* Tan. (persian lime). *International Journal of Environmental & Agriculture Research (IJOEAR)*. 3(7).
- Corina, I.P., Mukarlina dan Riza, L. 2014. Respon Pertumbuhan Kultur Biji Jeruk Siam Seed (*Citrus nobilis* var. *Microcarpa*) dengan Penambahan Ekstrak Tauge dan Benzilaminopurine (BAP). *Protobiont*. 3(2): 120-124.
- Dhita, W. 2011. Evaluasi Ketahanan Planlet Mutan Jeruk terhadap Penyakit Busuk Pangkal Batang Jeruk. *Skripsi*. Fakultas Pertanian IPB. Bogor.
- Dobranszka, J dan Teixeira-da-Silva, JA. 2011. Adventitious shoot regeneration from leaf thin cell layers in apple. *Scientia Horticulturae*. no.127. pp. 460-63.
- Elon, Y dan Jacqueline, P. 2015. Manfaat Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Dan Olahraga Untuk Menurunkan Kolesterol Total Klien Dewasa. *Jurnal Skolastik Keperawatan*. 1(1).
- Gaba, V.P. 2005. *Plant growth regulators in plant tissue culture and development*. In Trigiano, R.N dan D.J. Gray (eds.). *Plant development and biotechnology*. New York: CRC Press. P. 87–99.

- Gahan, P.B. 2007. *Totipotency and the cell cycle*. In Jain, S.M. & H. Häggman (eds.). *Protocols for micropropagation of woody trees and fruits*. The Netherlands: Springer. P. 3–14.
- Gardner F.P, Pearce R.B, dan Mitchell R.L. 1991. *Physiology of Crop Plants*. Diterjemahkan oleh H.Susilo. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- George, F. P. Sherrington PD. 1993. *Plant Propagation by Tissue Cultur*. Cambridge University Press. London.
- George, E.F. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture Part 1*, 2nd Edition. England: Exegetics Ltd.
- Gunawan, L. W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor. Bandung: PAU IPB
- Gunawan, L. W. 1987. *Teknik kultur jaringan*. Laboratorium kultur jaringan tanaman, Pusat Antar Universitas (PAU). Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Harahap, F., Poerwanto, R., Suharsono., Suriani, C., dan Rahayu S. (2014). *In vitro* growth and rooting of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) on medium with different concentrations of plant growth regulator. *HAYATI Journal of Biosciences*, 21(4), 151- 158.
- Harliana, W., Muslimin, dan I.N Suwastika. 2012. Organogenesis Tanaman Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour.) Secara *In vitro* Pada Media MS Dengan Penambahan berbagai Konsentrasi IAA (Indole AcetidAcid) dan BAP (Benzyl Amino Purin). *Jurnal Natural Science*. 1(1).
- Hayati, S.K., Yulita, N dan Nintya, S. 2010. Induksi Kalus dari Hipokotil Alfafa (*Mediago sativa* L.) Secara *In Vitro* dengan Penambahan Benzyl Amino Purine (BAP) dan A-Naphtalene Acetic Acid (NAA). *Bioma*. 1(12).
- Hendaryono, D.P.S., dan A. Wijayanti. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Hendaryono, D.P.S. dan Wijayani, A. (2012). *Teknik kultur jaringan: Pengenalan dan petunjuk perbanyak tanaman secara vegetatif modern*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Hidayat E.B. 1995. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. Bandung: Penerbit ITB.
- Hidayati, N., Wahyu, L dan Mayta N.I. 2014. Induksi Tunas *In Vitro* Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) Asal Kampar Dari Eksplan Tunas Apeks Dan Nodus *In Vitro*. *JOM FMIPA* 1(2).
- Imran. 2005. *Inisiasi Tunas Tanaman Panili (Vanilla planifolia Andrews) pada Berbagai Konsentrasi BAP secara In Vitro*. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Tadulako. Palu. (Tidak dipublikasikan).
- Isda, Mayta Novaliza. 2014. *Induksi Tunas Dan Pembentukan Akar Dari Eksplan Kotiledon Jeruk Siam (Citrus Nobilis Lour.) Asal Kampar Secara In Vitro*. *Seminar Nasional dan Rapat Tahunan Bidang MIPA*.
- Jajoo, Alka. 2010. *In vitro* Propagation of *Citrus limonia* Osbeck Through Nucellar Embryo Culture. *Current Research Journal of Biological Sciences* 2(1).
- Karjadi, A.K., dan Buchory, A. 2007. Pengaruh Penambahan Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan Tunas Bawang Putih. *Jurnal Hortikultura*. 17 (4).
- Kasli. 2009. Upaya Perbanyak Tanaman Krisan (*Crysanthemum* sp.) Secara *In Vitro*. *Jerami*. 2(3).
- Kepiro J.L, Roose M.L. 2007. *Nucellar Embryony*. Di dalam: IA Khan, editor. *Citrus Genetic, Breeding and Biotechnology*. London (GB): Biddlles Ltd, Kings Lynn. hlm 141-149.

- Lahoty, P. 2013. *In-vitro* Multiplication of Nagpur Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) Through STG. *Vegetos*. Vol. 26 (2)
- Lestari, E.G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen* 7(1).
- Manuhara, Y.S.W. 2014. *Kapita Selekta Kultur Jaringan Tumbuhan*. Surabaya: Universitas Airlangga Press.
- Martasari, C dan H. Mulyanto. 2008. Teknik Identifikasi Varietas Jeruk. *Iptek Hortikultura*. 2(4).
- Miah M., Nesawar, I.S., Hadiuzzaman, S. 2008. An Improved Protocol for Multiple Shoot Regeneration from Seedling and Mature Explants of *Citrus macroptera* (M.). *Plant. Tiss. Cult. & Biotech*. 18(1): 17-24.
- Mukhtar, R., M. M. Khan., B. Fatima., M. Abbas dan A. Shahid. 2005. In Vitro Regeneration and Multiple Shoots Induction in *Citrus reticulata* (Blanco). *International Journal Agri. Biol.*, 7(3).
- Muliati., Tengku, N., dan Nurbaiti. 2017. Pengaruh Naa, Bap Dan Kombinasinya Pada Media MS Terhadap Perkembangan Eksplan *Sansevieria Macrophylla* Secara In Vitro. *Jom Faperta*. 4(1).
- Mulyanto, H. 2014. Prospek Berkebun Jeruk JC (Japansche Citroen). Balai Penelitian Jeruk dan Buah Subtropika. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. <http://balitjestro.litbang.pertanian.go.id/prospek-berkebun-jeruk-jc-japanche-citroen/>. (Diakses pada 03 Maret 2019).
- Ordas, R.J dan Rodriguez, R. 1992. Banzyl Adenin Controlled Protein Synthesis and Growth in Apple Cell suspension. *Physiologis Plantarum*. 84(2).
- Parnata, A.S. 2004. *Zat Pengatur Tumbuh*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Pramanik, D dan F. Rachmawati. 2010. Pengaruh Jenis Media Kultur *In Vitro* dan Jenis Eksplan terhadap Morfogenesis Lili Oriental. *Jurnal Hortikultura*. 20(2).
- Prayoga, L. 2009. Pengaruh Media dan Konsentrasi BAP terhadap Pertumbuhan Tunas Mikro Pisang Raja Secara In Vitro. *Agritech*. 9(2).
- Purba, S.T. 2017. Pengaruh BAP dan IAA pada Perbanyakkan Tunas Krisan (*Chrysanthemum morifolium* R.) Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Kohesi*. 1(1).
- Purnamaningsih, R. 2002, Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. *Buletin AgroBio* 5(2): 51–58.
- Purnamaningsih, R. 2006. Induksi Kalus dan Optimasi Regenerasi Empat Varietas Padi melalui Kultur *In Vitro*. *Jurnal AgroBiogen* 2 (2): 74-80.
- Puspitasari, I.D., Wirdhatul, M., dan Dita, A. 2017. Pertumbuhan Kalus Jeruk JC (Japansche Citroen) pada Media Murashige and Skoog dengan Berbagai Konsentrasi NaCl. *Jurnal Sains Dan Seni Its*. 6(2).
- Rahayuni, T dan Hadijah S. 1996. Studi Pengaruh Berbagai Jenis Batang Bawah terhadap Keberhasilan Okulasi Tanaman Jeruk. Laporan Akhir Penelitian. Fakultas Pertanian Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Rahmahayu., Siti, F dan Mayta N.I. 2014. Induksi Tunas Jeruk Siam (*Citrus Nobilis* Lour.) Asal Kampar Dengan Pemberian Benzil Amino Purine (Bap) Secara In Vitro. *JOM FMIPA*. 1(2).
- Rasud, Y dan Hairil, A. 2017. Induksi Tunas Jeruk Siam Dengan Penambahan Benzil Amino Purine (BAP) Secara In Vitro. *Jurnal Agrotech*. 9(2).

- Rasud, Yulianti, Sri Ulfa dan Baharia. 2015. Pertumbuhan Jeruk Manis (*Citrus Sinensis* L.) dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Sitokinin Secara In Vitro. *J. Agroland*. 22(3).
- Riady, Safarudin Slamet dan Sumeru Ashari. 2017. Pengaruh Tinggi Batang Bawah pada Keberhasilan Grafting Dua Jenis Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Lokal Wonosalam Kabupaten Jombang. *Jurnal Produksi Tanaman*. 5(10).
- Ridjal, Julian Adam. 2008. Analisis Faktor Determinan Keikutsertaan Petani Berkelompok, Pendapatan dan Pemasaran Jeruk Siam di Kabupaten Jember. *J-SEP*. 2(1).
- Roy, R. S. dan Goldschmidt, E., 1996. *Biology of Citrus*. Cambridge University Press.
- Salisbury, F.K., dan C.W.Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan jilid 3*. Bandung: Penerbit ITB.
- Samanhudi, Tetrani Sakya Amalia dan Rahayu Muji. 2010. *In vitro* Axillary Bud Multiplication of *Citrus Nobilis* Lour. in Indonesia. *Journal of Life Sciences*. 4(4).
- Sarwono, B., 1995. *Jeruk dan Kerabatnya*. Jakarta. Penebar Swadaya.
- Semendaya dan Fauzan H. 2014. *Kultur Jaringan Stroberi (Fragaria sp.) di Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika Batu Jawa Timur*. Teknologi Industri Benih, IPB. Bogor.
- Setiono, A.S, 2005. Poliembrional dan Seleksi. Semaian Vegetatif pada Pembibitan Jeruk, *Sirkular Teknologi Inovasi Jeruk*. 3(4).
- Shihab, M.Q. 2001. *Tafsir Al-Mishbah*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sianipar, N. F., Wattimena G.A., Aswidinnoor H., Thenawidjaya M., Mathius N.T., dan Ginting G. 2007. Karakterisasi secara morfologi abnormalitas embrio somatik kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) dari eksplan daun. *Jurnal Agrobiogen* 3 (1): 32 – 39.
- Stafford, A. dan Warren, G. 1991. *Plant Cell and Tissue Culture*. Buckingham : Open University Press.
- Situmeang, H.P., Asil, B., dan Irsal. 2015. Pengaruh Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh dan Sumber Bud chips terhadap Pertumbuhan Bibit Tebu (*Saccharum officinarum* L.) di Pottray. *Jurnal Online Agroekoteknologi* . ISSN No. 2337- 6597. 3(3): 992 - 1004, Juni 2015.
- Srivastava, L.M. 2002. *Plant growth and development, hormon and environment*. Academic Press. London.
- Steinmacher, D.A., Krohn NG., Danras ACM., Stefenon VM., Clement CR dan Guerra MP. 2007. Somatic embryogenesis in peach palm using the thin cell layer technique: induction, morpho-histological aspects and AFLP analysis of somaclonal variation. *Annals of Botany*. no.100. pp. 699-9.
- Soelarso, B.1996. *Budi daya Jeruk Bebas Penyakit*. Jakarta: Kanisius.
- Spiegel-Roy P, Goldschmidt EE. 1996. *Biology of Citrus*. Cambridge (GB): Cambridge Univ Pr. hlm 230.
- Sugiharto, B., Triastuti, R., Mukhiissul, F. 2007. Propagasi Tanaman Nilam (*Pogostemon Cablin* Benth.) Secara In Vitro Dengan Kombinasi Sitokinin Dan Auksin 2,4 D. *MIPA*, 17(1).
- Sugiyarto, M. 1994. Deskripsi Beberapa Varietas Batang Bawah dan Varietas Jeruk Komersial. *Balit. Hort. Solok*. 20 hal.

- Sukmadjaja D., dan Mariska I., 2003. Perbanyak Bibit Jati Melalui Kultur Jaringan. Bogor: Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.
- Suhariyanto. 2011. Induksi Tunas Jeruk Pamelon (*Citrus maxima* Merr.) Kultivar Bageng Secara *In Vitro* dengan Pemberian Jenis dan Konsentrasi Sitokinin. Tesis. Program Studi Agronomi Fakultas Pasca Sarjana Universitas Sebelas Maret.
- Suharsi, T.K dan Ananda, D.P.S. 2014. Pertumbuhan Mata Tunas Jeruk Keprok (*Citrus nobilis*) Hasil Okulasi pada Berbagai Media Tanam dan Umur Batang Bawah *Rough Lemon* (*C. jambhiri*). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* (JIPI). 18(2).
- Supriyanto, A. 2000. Budidaya Jeruk Besar. Batu: IPPTP.
- Surachman, D dan Aisyah, S. 2011. Teknik Sterilisasi Rimpang Jahe Sebagai Bahan Perbanyak Tanaman Jahe Sehat. *Buletin Teknik Pertanian*. 16(1).
- Susanto, S. 2003. Pertumbuhan dan pembuahan jeruk besar 'Cikoneng' pada beberapa jenis batang bawah. *Ilmu Pertanian* 10(1): 57-63.
- Swingle, W.T., Reece, P.C. 1967. The Botany of Citrus and Its Wild Relatives. <http://websites.lib.ucr.edu/agric/webber/Vol1/Chapter3.html>. Diakses tanggal 2 Juni 2014.
- Taufik, M. 2010. Penularan Citrus Vein Phloem Degeneration (Cvpd) Dengan Teknik Penyambungan. *Agriplus*. 20(1)
- Teixeira-da-Silva, JA dan Dobranszki, J. 2013. 'Plant thin cell layers: A 40-year celebration'. *Journal Plant Growth Regulator*. no. 32, pp. 922-43.
- Tim Mekarsari. 2003. Ensiklopedia Buah Jeruk. Jakarta :Grasindo.
- Trigiano, R.N. dan D.J. Gray. 2005. A brief introduction to plant anatomy. In: Trigiano, R.N. dan D.J. Gray (eds.) *Plant development and biotechnology*. CRC Press. New York. P. 87-99.
- Tyas, K., Slamet. S., Iswari,S.D., dan Nurul, K. 2016. Organogenesis Tunas Secara Langsung pada Pamelon (*Citrus maxima* Burm Merr.). *Buletin Kebun Raya*. 19(1).
- Umehara, M., Miho, I dan Hiroshi, K. 2007. Endogenous Factors that Regulate Plant Embryogenesis: Recent Advances. *Japanese Journal of Plant Science*. 1(1).
- USDA, ARS, National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network - (GRIN) [Online Database]. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. URL: <http://www.arsgrin.gov/cgi-bin/npgs/html/family.pl?2385>. Diakses Tanggal 05 April 2019.
- Wahyudi, E., Indah, P dan Ervina, A. 2017. Perbedaan Batang Bawah dan Masa Penyimpanan Entres Terhadap Pertumbuhan Okulasi Bibit Jeruk Siam Madu (*Citrus nobilis*). *Jurnal Agroteknologi*. 8(1).
- Wardiyati, T. 1998, Kultur Jaringan Tanaman Kortikultura. Malang. FPU
- Wariyah, C. 2010. Vitamin C Retention And Acceptability Of Orange (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) Juice During Storage In Refrigerator. *Jurnal AgriSains*. 1(1).
- Wattimena. 1998. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Bogor: PAU.
- Wijayani, Y dan Mudyantini, W. 2007 Pertumbuhan Tunas dan Struktur Anatomi *Protocorm Like Body* Anggrek *Grammatophyllum scriptum* (Lindl) BI.

- dengan Pemberian Kinetin dan NAA. *Bioteknologi*. 4(2): 33-40. ISSN: 0216-6887.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Zulkarnain. 2014. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Jakarta: Bumi Aksara.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Pengamatan

1. Data Pengamatan Waktu Muncul Tunas

No	R	S	Perlakuan BAP				
			0 mg/L	0,5 mg/L	1 mg/L	1,5 mg/L	2 mg/L
1	1	1	90	69	55	70	74
		2	90	70	56	63	73
		3	90	67	67	62	72
		4	90	68	54	60	79
Rata-rata			90	68.5	58	63.75	74.5
2	2	1	90	70	66	62	73
		2	90	65	57	61	73
		3	90	64	57	61	70
		4	90	68	66	60	68
Rata-rata			90	66.75	61.5	61	71
3	3	1	90	70	54	70	74
		2	90	62	61	75	65
		3	90	69	58	62	75
		4	90	68	58	62	77
Rata-rata			90	67.25	57.75	67.25	72.75
4	4	1	90	70	60	64	75
		2	90	68	60	58	75
		3	90	71	55	65	74
		4	90	71	56	65	75
Rata-rata			90	70	57.75	63	74.75
5	5	1	90	68	53	60	77
		2	90	68	53	64	76
		3	90	69	55	64	76
		4	90	69	54	70	74
Rata-rata			90	68.5	53.75	64.5	75.75

2. Data Pengamatan Jumlah Tunas

No	R	S	Perlakuan BAP				
			0 mg/L	0,5 mg/L	1 mg/L	1,5 mg/L	2 mg/L
1	1	1	0	1	7	6	1
		2	0	1	6	4	1
		3	0	1	8	5	2
		4	0	4	6	3	1
Rata-rata			0	1.75	6.75	4.5	1.25
2	2	1	0	5	8	3	1
		2	0	3	6	5	2
		3	0	2	7	4	2
		4	0	1	7	3	1
Rata-rata			0	2.75	7	3.75	1.5
3	3	1	0	4	6	5	1
		2	0	3	5	3	2
		3	0	4	6	5	2
		4	0	3	8	3	3
Rata-rata			0	3.5	6.25	4	2
4	4	1	0	2	3	7	3
		2	0	3	5	4	2
		3	0	4	6	5	3
		4	0	2	6	3	2
Rata-rata			0	2.75	5	4.75	2.5
5	5	1	0	3	5	2	2
		2	0	3	7	2	2
		3	0	3	5	4	3
		4	0	4	4	1	4
Rata-rata			0	3.25	5.25	2.25	2.75

3. Data Pengamatan Panjang Tunas

No	R	S	Perlakuan BAP				
			0 mg/L	0,5 mg/L	1 mg/L	1,5 mg/L	2 mg/L
1	1	1	0	0.7	1.4	1.2	0.5
		2	0	0.9	1	0.8	0.8
		3	0	0.7	1.3	1	0.8
		4	0	1.2	0.7	1.3	0.7
Rata-rata			0	0.875	1.1	1.075	0.7
2	2	1	0	0.8	2.1	1	0.5
		2	0	0.5	2	1.4	0.7
		3	0	0.7	1.4	1	0.5
		4	0	0.9	0.8	0.8	0.5
Rata-rata			0	0.725	1.575	1.05	0.55
3	3	1	0	0.5	1.5	0.9	0.6
		2	0	0.8	1	0.5	0.5
		3	0	0.9	0.9	1	0.5
		4	0	0.9	2	1.5	0.5
Rata-rata			0	0.775	1.35	0.975	0.525
4	4	1	0	0.8	1.2	0.6	0.5
		2	0	0.7	1.1	0.7	0.6
		3	0	0.6	2.2	1.5	0.7
		4	0	0.7	1	1	0.5
Rata-rata			0	0.7	1.375	0.95	0.575
5	5	1	0	0.7	1.6	1	0.6
		2	0	0.6	1.5	1.2	0.6
		3	0	0.6	1	0.9	0.5
		4	0	0.8	1.3	0.7	0.7
Rata-rata			0	0.675	1.35	0.95	0.6

4. Data Pengamatan Berat Eksplan

PERLAKUAN	ULANGAN	NOMOR EKSPAN							RATA-RATA
		1	2	3	4	5	6	7	
0 mg/L	1	0.0062	0.022	0.016	0.0089	0.0111	0.0054	0.0075	0.01101429
	2	0.021	0.0118	0.0097	0.0082	0.0211	0.0238	0.0068	0.01462857
	3	0.023	0.0071	0.0056	0.0056	0.022	0.0321	0.0075	0.0147
	4	0.0072	0.0094	0.0202	0.0156	0.0233	0.0073	0.0045	0.0125
	5	0.005	0.0085	0.0047	0.0138	0.0066	0.0068	0.0069	0.00747143
0,5 mg/L	1	0.0187	0.0168	0.0156	0.0178	0.031	0.032	0.0225	0.02205714
	2	0.0219	0.0155	0.0097	0.0211	0.0219	0.0212	0.0265	0.01968571
	3	0.0115	0.0277	0.0236	0.0289	0.0085	0.0265	0.037	0.02338571
	4	0.0234	0.032	0.0313	0.0123	0.0147	0.0277	0.026	0.02391429
	5	0.0131	0.0222	0.024	0.0098	0.0087	0.0129	0.0256	0.01661429
1 mg/L	1	0.046	0.035	0.0328	0.0118	0.012	0.0438	0.0436	0.03214286
	2	0.032	0.0481	0.0367	0.0471	0.0431	0.0387	0.0344	0.04001429
	3	0.0414	0.0651	0.0261	0.0181	0.0292	0.0328	0.0128	0.03221429
	4	0.034	0.0215	0.0372	0.0183	0.0224	0.0202	0.019	0.02465714
	5	0.0252	0.0155	0.028	0.0125	0.0534	0.0176	0.054	0.02945714
1,5 mg/L	1	0.0214	0.0421	0.0187	0.0142	0.0233	0.0129	0.0167	0.02132857
	2	0.0381	0.0426	0.027	0.036	0.0275	0.0411	0.0268	0.03415714
	3	0.0189	0.0286	0.0291	0.041	0.019	0.012	0.0288	0.02534286
	4	0.0157	0.0369	0.0111	0.0349	0.0299	0.0213	0.0129	0.02324286
	5	0.033	0.0324	0.0237	0.0154	0.0238	0.0311	0.0359	0.0279
2 mg/L	1	0.0061	0.0113	0.0151	0.0096	0.0066	0.0085	0.038	0.0136
	2	0.0114	0.0284	0.0192	0.0133	0.0061	0.021	0.011	0.01577143
	3	0.0121	0.0142	0.0112	0.0068	0.0119	0.0056	0.014	0.01082857
	4	0.0186	0.0129	0.0119	0.0093	0.0171	0.0123	0.041	0.01758571
	5	0.0141	0.0138	0.0069	0.0126	0.0131	0.0201	0.023	0.0148

Lampiran 2. Hasil ANOVA dan DMRT

1. Pengaruh BAP terhadap waktu muncul tunas

ANOVA

WMT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3009.915	4	752.479	210.484	.000
Within Groups	71.500	20	3.575		
Total	3081.415	24			

WMT

Duncan^a

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
BAP 1	5	57.7500				
BAP 1.5	5		63.9000			
BAP 0.5	5			68.2000		
BAP 2	5				73.7500	
BAP 0	5					90.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

2. Pengaruh BAP terhadap jumlah tunas

ANOVA

JMLHTNS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	100.235	4	25.059	48.074	.000
Within Groups	10.425	20	.521		
Total	110.660	24			

JMLHTNS

Duncan^a

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
BAP 0	5	.0000			
BAP 2	5		2.0000		
BAP 0.5	5		2.8000		
BAP 1.5	5			3.8500	
BAP 1	5				6.0500
Sig.		1.000	.095	1.000	1.000

3. Pengaruh BAP terhadap panjang tunas

ANOVA

PJGTNS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.049	4	1.262	147.859	.000
Within Groups	.171	20	.009		
Total	5.220	24			

PJGTNS

Duncan^a

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
BAP 0	5	.0000				
BAP 2	5		.5900			
BAP 0.5	5			.7500		
BAP 1.5	5				1.0000	
BAP 1	5					1.3500
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

4. Pengaruh BAP terhadap berat Eksplan

ANOVA

BERAT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.001	4	.000	20.660	.000
Within Groups	.000	20	.000		
Total	.002	24			

BERAT

Duncan^a

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
BAP 0	5	.0121		
BAP 2	5	.0145		
BAP 0.5	5		.0211	
BAP 1.5	5		.0264	
BAP 1	5			.0317
Sig.		.344	.051	1.000

Lampiran 3. Perhitungan Larutan Stok BAP

1. Pembuatan Larutan Stok BAP 1000 mg/L dalam 100 ml.

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

2. Perhitungan Pengambilan BAP dalam Larutan Stok

1. BAP konsentrasi 0,5 mg/L

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

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 0,5 \times 500 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0,5 \times 500}{1000}$$

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

2. BAP konsentrasi 1 mg/L

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

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 1 \times 500 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1 \times 500}{1000}$$

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

3. BAP konsentrasi 1,5 mg/L

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

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 1,5 \times 500 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1,5 \times 500}{1000}$$

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

4. BAP konsentrasi 2 mg/L

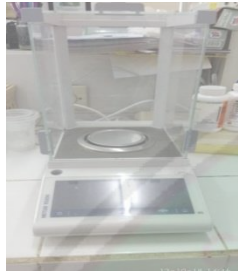








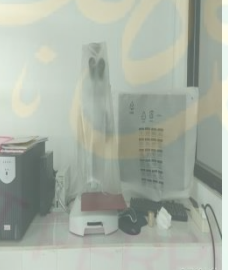


$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 2 \times 500 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{2 \times 500}{1000}$$

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

Lampiran 4. Foto Alat Penelitian

			
<p>Timbangan Analitik</p>	<p>Autoklaf</p>	<p>Oven</p>	<p>Kulkas</p>
			
<p>Hot Plate</p>	<p>Botol Kultur</p>	<p>Cawan petri</p>	<p>LAF</p>
			
<p><i>pH meter</i></p>	<p>Mikroskop</p>	<p>Alat Ineksi</p>	<p>Plastik, Karet, Kertas Label</p>

Lampiran 5. Foto Bahan Penelitian

			
<p>Jeruk JC</p>	<p>Media MS</p>	<p>Alkohol 70%, 96% dan spirtus</p>	<p>Agar-agar</p>
			
<p>ZPT BAP</p>	<p>(Thidiazuron) TDZ</p>	<p>Gula Pasir</p>	<p>Myo-Inositol</p>
			
<p>Detergen</p>		<p>Tisu</p>	



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

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Dinar Alfidhdhoh
NIM : 15620124
Program Studi : Biologi
Semester : Genap T.A 2019/2020
Pembimbing : Suyono, M. P
Judul Skripsi : Induksi Tunas Jeruk Japansche Citroen (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) Pada Berbagai Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dengan Teknik TCL (*Thin Cells Layer*)

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	17 Januari 2019	Konsultasi judul skripsi	1.
2.	19 Februari 2019	Konsultasi BAB I	2.
3.	10 Mei 2019	Konsultasi BAB I dan III	3.
4.	15 Mei 2019	Konsultasi BAB II	4.
5.	27 Mei 2019	Konsultasi BAB I, II, dan III	5.
6.	28 Mei 2019	ACC Proposal	6.
7.	24 Januari 2020	Konsultasi BAB IV	7.
8.	10 Februari 2020	Revisi BAB IV	8.
9.	24 Februari 2020	Konsultasi BAB IV dan V	9.
10.	28 Februari 2020	Konsultasi Abstrak	10.
10	02 Maret 2020	ACC Skripsi	11.

Pembimbing Skripsi,

Suyono, M. P
NIP. 19710622 200312 1 002



Malang, 17 Maret 2020
Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002



KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Dinar Alfidhdhoh
NIM : 15620124
Program Studi : Biologi
Semester : Genap T.A 2019/2020
Pembimbing : Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
Judul Skripsi : Induksi Tunas Jeruk Japansche Citroen (JC) (*Citrus limonia* Osbeck) Pada Berbagai Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dengan Teknik TCL (*Thin Cells Layer*)

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	15 Mei 2019	Konsultasi BAB I	1.
2.	23 Mei 2019	Konsultasi BAB II dan III	2.
3.	24 Mei 2019	ACC BAB I, II, dan III	3.
4.	16 Desember 2019	Konsultasi BAB IV	4.
5.	02 Maret 2020	ACC Skripsi	5.

Malang, 17 Maret 2020

Pembimbing Agama Skripsi,

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



Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002