

INDUKSI, PROLIFERASI, DAN PENDEWASAAN EMBRIO SOMATIK JERUK SIAM BERASTAGI (*Citrus reticulata* L.) SECARA *IN VITRO*

ANGEL YOHANNA



PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Induksi, Proliferasi, dan Pendewasaan Embrio Somatik Jeruk Siam Berastagi (*Citrus reticulata* L.) secara *In vitro*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2025

Angel Yohanna
A2503231017

RINGKASAN

ANGEL YOHANNA. Induksi, Proliferasi, dan Pendewasaan Embrio Somatik Jeruk Siam Berastagi (*Citrus reticulata* L.) secara *In vitro*. Dibimbing oleh DARDA EFENDI dan MEGAYANI SRI RAHAYU.

Jeruk siam berastagi (*Citrus reticulata* L.) merupakan salah satu komoditas unggulan dari Kabupaten Karo, Sumatera Utara. Buah ini memiliki karakteristik khas, yakni kulit yang tebal, berwarna kuning dengan permukaan halus, rasanya manis, dan kandungan vitamin C yang tinggi. Buah ini memiliki tingkat kemanisan 13,5°Brix, serta kadar vitamin C sebesar 51,6 mg per 100 g. Masalah utama dalam perkebunan jeruk berastagi adalah serangan HPT yang tinggi dan penyediaan bibit yang berkualitas yang masih sulit. Salah satu langkah awal yang dapat dilakukan untuk memperbaiki kualitas dan kuantitas tanaman jeruk ialah kultur jaringan tanaman. Metode ini menawarkan alternatif yang berbasis seluler dan bermanfaat untuk perkembangan teknik bioteknologi lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan protokol embriogenesis somatik jeruk siam berastagi dari tahap isolasi embrio nuselar hingga terbentuk tanaman muda.

Penelitian ini terdiri dari 6 percobaan, yaitu 1) induksi kalus embriogenik yang terdiri dari 2 sub-percobaan, yaitu 1a) menggunakan jenis media dan konsentrasi picloram dan 1b) menggunakan konsentrasi picloram dan 2,4-D; 2) proliferasi massa kalus embriogenik menggunakan jenis dan konsentrasi karbohidrat; 3) Perkembangan dan perkecambahan embrio somatik yang terdiri dari 3 subpercobaan, yaitu 3a) pendewasaan embrio somatik dengan 1 mg/L BAP; 3b) perkecambahan embrio dengan jenis media; dan 3c) perkecambahan embrio dengan konsentrasi agar. Seluruh percobaan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan 1, Fakultas Pertanian, IPB University. Analisis histologi dilakukan di Laboratorium EKO-SDT, Fakultas MIPA, IPB University.

Percobaan induksi kalus bertujuan menentukan jenis media dan konsentrasi picloram atau 2,4-D yang paling efektif untuk menginduksi kalus embriogenik dari eksplan embrio nuselar. Percobaan 1a menggunakan rancangan kelompok lengkap teracak (RKLT) faktorial dengan jenis media sebagai faktor pertama dan konsentrasi picloram sebagai faktor kedua. Percobaan 1b menggunakan RKLT satu faktor dengan konsentrasi picloram dan 2,4-D. Hasil sidik ragam menunjukkan interaksi jenis media dan konsentrasi picloram tidak berpengaruh nyata pada persentase eksplan membentuk kalus dan kalus embriogenik, namun berpengaruh nyata pada diameter kalus embriogenik. Jenis media dan konsentrasi picloram secara tunggal berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan membentuk kalus dan kalus embriogenik. Uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa media Murashige dan Skoog yang diperkaya vitamin Wetmore (MW) adalah media yang terbaik dalam induksi kalus embriogenik. Konsentrasi 1,5 mg/L picloram merupakan konsentrasi optimal, ditunjukkan pada parameter persentase eksplan membentuk kalus (86%) dan kalus embriogenik (86%) dengan rata-rata diameter kalus embriogenik (13,8 mm). Uji Regresi Polinomial memprediksi diameter kalus embriogenik maksimum sebesar 14 mm pada konsentrasi 3,4 mg/L dengan 84% eksplan yang membentuk kalus embriogenik pada konsentrasi 2,58 mg/L picloram.

Percobaan proliferasi massa kalus embriogenik dilakukan untuk mendapatkan jenis dan konsentrasi karbohidrat yang efektif dalam perbanyakan

massa kalus embriogenik jeruk berastagi. Rancangan penelitian ini menggunakan RKLT satu faktor dengan jenis dan konsentrasi karbohidrat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa media MW yang diperkaya dengan 4% sukrosa adalah media terbaik untuk proliferasi kalus embriogenik dengan diameter massa kalus rata-rata 14 mm dari diameter awal 5 mm dan menghasilkan 96% eksplan yang berkembang menjadi embrio somatik tahap globular pada 8 minggu kultur. Berbeda dengan sukrosa, laktosa menyebabkan pertumbuhan diameter kalus yang kurang optimal, namun mendorong pematangan embrio somatik.

Percobaan perkembangan dan perkecambahan embrio somatik dilakukan untuk mempelajari pendewasaan embrio somatik serta mendapatkan jenis media dan konsentrasi agar terbaik yang mendukung perkecambahan embrio somatik. Percobaan ini terdiri atas tiga sub-percobaan. Percobaan 3a dilakukan untuk menganalisis histodiferensiasi, morfologi, dan histologi embrio somatik. Percobaan 3b menggunakan RKLT satu faktor, yaitu jenis media, sedangkan percobaan 3c menggunakan RKLT satu faktor dengan perlakuan konsentrasi agar. Hasil penelitian 3a menunjukkan bahwa 1 mg/L BAP mampu meningkatkan populasi embrio somatik jeruk berastagi dengan rata-rata embrio globular (8,8), jantung (2,2), torpedo (4,4), dan kotiledon (3,8) dari eksplan awal 10 embrio globular berukuran 5 mm. Hasil penelitian perkecambahan embrio somatik menunjukkan bahwa jenis media tidak berpengaruh nyata terhadap seluruh parameter perkecambahan embrio somatik ($p < 0,05$). Pada minggu ke-8 kultur, media MS menghasilkan tinggi *plantlet* rata-rata 18,3 mm, dengan rata-rata tunas 1,3 dan akar 2,7 per eksplan, sedangkan media MW menghasilkan tinggi tanaman rata-rata 18,1 mm dengan rata-rata tunas 1,4 dan akar 1,3 per eksplan pada minggu ke-8 kultur. Konsentrasi agar 3 g/L merupakan konsentrasi terbaik untuk perkecambahan embrio, dengan waktu berkecambah rata-rata 15 hari, menghasilkan 96% eksplan yang berkecambah dan rata-rata akar terbanyak, yaitu 0,9 akar per eksplan.

Kata kunci: embrio somatik, kalus embriogenik, laktosa, picloram, sukrosa



SUMMARY

ANGEL YOHANNA. Induction, Proliferation, and Maturation of Somatic Embryos of Berastagi Mandarin (*Citrus reticulata* L.) In vitro. Supervised by DARDA EFENDI and MEGAYANI SRI RAHAYU.

Berastagi Mandarin (*Citrus reticulata* L.) is one of the leading commodities of Karo Regency, North Sumatra. This fruit has distinctive characteristics, such as a thick yellow rind with a smooth surface, a sweet taste, and high vitamin C content. The fruit has a sweetness level of 13,5°Brix and a vitamin C content of 51,6 mg per 100 g. The main problems faced in berastagi mandarin plantations are the high incidence of pests and diseases and the difficulty in providing high-quality seedlings. One of the initial steps that can be taken to improve the quality and quantity of orange plants is the use of plant tissue culture. This method offers a cell-based alternative that is beneficial for the development of other biotechnological approaches. This study aimed to produce a protocol for somatic embryogenesis of berastagi mandarin from the isolation of nucellar embryos to the formation of young plants.

This study consisted of six experiments: 1) induction of embryogenic callus, which consisted of two sub-experiments: 1a) using types of media and picloram concentrations, and 1b) using picloram and 2,4-D concentrations; 2) proliferation of embryogenic callus mass using different types and concentrations of carbohydrates; 3) development and germination of somatic embryos, which consisted of three sub-experiments: 3a) maturation of somatic embryos with 1 mg/L BAP; 3b) embryo germination with different types of media; and 3c) embryo germination with different agar concentrations. All experiments were conducted at the Tissue Culture Laboratory 1, Faculty of Agriculture, IPB University, while histological analyses were performed at the EKO-SDT Laboratory, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, IPB University.

The callus induction experiment aimed to determine the most effective type of medium and concentration of picloram or 2,4-D for inducing embryogenic callus from nucellar embryo explants. Experiment 1a used a factorial complete randomized block design (CRBD), with the type of medium as the first factor and picloram concentration as the second factor. Experiment 1b used a one factor CRBD with picloram and 2,4-D concentrations. Analysis of variance showed that the interaction between media type and picloram concentration did not significantly affect the percentage of explants forming callus or embryogenic callus, but had a significant effect on the diameter of the embryogenic callus. Independently, both media type and picloram concentration significantly affected the percentage of explants forming callus and embryogenic callus. Further DMRT analysis indicated that Murashige and Skoog medium enriched with Wetmore vitamins (MW) was the best for embryogenic callus induction. A concentration of 1,5 mg/L picloram was found to be optimal, as indicated by the percentage of explants forming callus (86%) and embryogenic callus (86%) with an average embryogenic callus diameter of 13,8 mm. Polynomial regression predicted a maximum embryogenic callus diameter of 14 mm at a concentration of 3,4 mg/L, with 84% of explants forming embryogenic callus at a concentration of 2,58 mg/L.

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

An experiment on embryogenic callus mass proliferation was conducted to determine the best type and concentration of carbohydrate for the multiplication of embryogenic callus mass of berastagi mandarin. This study used a one-factor complete randomized block design (CRBD) with types and concentrations of carbohydrates as factors. The results showed that the MW medium enriched with 4% sucrose was the best medium for embryogenic callus proliferation, producing callus clumps with an average diameter of 14 mm from an initial diameter of 5 mm, and resulting in 96% of explants developing into globular stage somatic embryos after 8 weeks of culture. In contrast to sucrose, lactose resulted in less optimal callus diameter growth but promoted somatic embryo maturation.

An experiment on the development and germination of somatic embryos was conducted to study the maturation of somatic embryos and to determine the best type of medium and agar concentration to support somatic embryo germination. This experiment consisted of three sub-experiments. Experiment 3a was conducted to analyze the histodifferentiation, morphology, and histology of somatic embryos. Experiment 3b used a one-factor CRBD, namely the type of medium, whereas Experiment 3c used a one-factor CRBD with agar concentration treatments. The results of Experiment 3a showed that 1 mg/L BAP was able to increase the population of berastagi mandarin somatic embryos with an average of 8,8 globular, 2,2 heart, 4,4 torpedo, and 3,8 cotyledon embryos from an initial explant of 10 globular embryos measuring 5 mm. The results of the somatic embryo germination experiment showed that the type of medium had no significant effect on any of the parameters of somatic embryo germination ($p < 0,05$). At the 8th week of culture, MS medium produced plants with an average height of 18,3 mm, with an average of 1,3 shoots and 2,7 roots per explant, while MW medium produced plants with an average height of 18,1 mm, with an average of 1,4 shoots and 1,3 roots per explant at the 8th week of culture. An agar concentration of 3 g/L was the best for embryo germination, with an average germination time of 15 days, resulting in 96% of explants germinating and the highest average number of roots, which was 0,9 roots per explant.

Keywords: somatic embryo, embryogenic callus, lactose, picloram, sucrose

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2025
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

INDUKSI, PROLIFERASI, DAN PENDEWASAAN EMBRIO SOMATIK JERUK SIAM BERASTAGI (*Citrus reticulata* L.) SECARA *IN VITRO*

ANGEL YOHANNA

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman

**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1. Dr. Ir. Diny Dinarti, M.Si.
2. Dr. Arya Widura Ritonga, S.P., M.Si.



Judul Tesis : Induksi, Proliferasi, dan Pendewasaan Embrio Somatik Jeruk Siam Berastagi (*Citrus reticulata* L.) secara *In Vitro*
Nama : Angel Yohanna
NIM : A2503231017

@Hak cipta milik IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Disetujui oleh

Pembimbing I:
Prof. Dr. Ir. Darda Efendi, M.Si.

Pembimbing I:
Dr. Ir. Megayani Sri Rahayu, M.S.

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si.
NIP 19700404199702001

Dekan Fakultas Pertanian:
Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc.Agr.
NIP 196902121992031003



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan April 2024 sampai bulan Maret 2025 ini adalah Embriogenesis somatik tanaman untuk memperoleh tanaman unggul, dengan judul “Induksi, Proliferasi, dan Pendewasaan Embrio Somatik Jeruk Siam Berastagi (*Citrus reticulata* L.) secara *In vitro*”.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Darda Efendi, M.Si. dan Dr. Ir. Megayani Sri Rahayu, M.S selaku komisi pembimbing atas segala dukungan, kesabaran, arahan dan bimbingan selama penelitian hingga penulisan tesis.
2. Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si. selaku Kepala Program Studi dan Dr. Arya Widura Ritonga, S.P., M.Si sebagai Sekretaris PS PBT atas saran dan arahnya.
3. Prof. Dr. Ir. Bambang Sapta Purwoko, M.Sc selaku moderator kolokium, dan Prof. Dr. Ir. Trikoesoemaningtyas, M.Sc selaku moderator seminar atas saran dan arahnya.
4. Dr. Ir. Diny Dinarti selaku Penguji Luar Komisi atas saran dan arahnya.
5. Bapak (Lambok Limbong) dan ibu (Windawati br. Situngkir S. Keb. Bd.) serta adik (Desi Rospita Sari Limbong dan Michael Cleota Limbong) atas segala jerih payah, doa, pengertian, rasa cinta dan sayang yang tidak pernah putus kepada penulis.
6. Seluruh civitas akademika Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, khususnya para dosen Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman IPB yang telah mencurahkan ilmunya kepada kami.
7. Keluarga besar Laboratorium Kultur Jaringan 1, Ibu Juariah, Dea Hayu, Aulia Floribunda, Anjeli, Zahro, Silvia, dan Izza yang telah banyak membantu pelaksanaan penelitian ini.
8. Keluarga besar PBT 2023 yang selalu ramai dan saling menyemangati.
9. Sahabatku, Agung Triputra Todingrante S.P., Dea Puspamiya Rahayu S.P., Nabila Annisa Nurbaiti, S.P., Zendi Alhamami S.P., Naillah Azmi, S.Agr., Gaby Tarigan S.Sos., Cindy Tambunan S.Farm, yang sangat penulis kasihi dan membantu penulis dari awal hingga saat ini.

Semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan ilmu pertanian masa depan.

Bogor, Agustus 2025
Angel Yohanna



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	ii
DAFTAR GAMBAR	ii
DAFTAR LAMPIRAN	ii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Tujuan	3
1.3 Hipotesis	3
1.4 Ruang Lingkup	3
II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Jeruk Berastagi (<i>Citrus reticulata</i> L.)	5
2.2. Kultur Jaringan	6
2.3. Zat Pengatur Tumbuh	7
2.4. Embriogenesis Somatik	8
2.5 Tahap Perkembangan Embrio Somatik	9
III INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK	10
3.1 Abstrak	10
3.2 Pendahuluan	10
3.3 Metode Penelitian	11
3.4 Hasil dan Pembahasan	14
3.5 Simpulan	22
IV PROLIFERASI KALUS EMBRIOGENIK	23
4.1 Abstrak	23
4.2 Pendahuluan	24
4.3 Metode Penelitian	24
4.4 Hasil dan Penelitian	26
4.5 Simpulan	28
V PERKEMBANGAN DAN PERKECAMBAHAN EMBRIO SOMATIK	29
5.1 Abstrak	29
5.2 Pendahuluan	30
5.3 Metode Penelitian	30
5.4 Hasil dan Pembahasan	33
5.5 Simpulan	39
VI PEMBAHASAN UMUM	40
VII SIMPULAN DAN SARAN	42
6.1 Simpulan	42
6.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	50