

**Pengaruh Asam Amino Glutamin dan Arginin terhadap Pertumbuhan
Anggrek *Dendrobium* sp. secara *In Vitro***

***The Amino Acids effect of Glutamine and Arginine to Dendrobium sp Orchid
Growth In Vitro***

Sinta Rahmawati^{1 *)}, Tintrim Rahayu^{2 **)}, Gatra Ervi Jayanti³
^{1, 2, 3} Program studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Malang, Indonesia

ABSTRAK

Anggrek *Dendrobium* sp. sangat populer karena memiliki beragam bentuk, warna serta keindahan bunganya. Penanganan khusus diperlukan untuk pertumbuhan anggrek, seperti memberi nutrisi yang tepat untuk merangsang pertumbuhannya. Komposisi media kultur secara signifikan berdampak pada perkembangan planlet. Glutamin dan arginin menjadi asam amino yang banyak digunakan dalam media kultur jaringan. Penambahan glutamin pada media kultur membuat planlet anggrek terinduksi nitrogen alami yang dapat meningkatkan pertumbuhan planlet. Sedangkan arginin yang diinduksi secara eksogen dapat meningkatkan kadar nitrit oksida, sehingga merangsang pertumbuhan akar planlet. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan asam amino glutamin dan arginin dalam media kultur terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium* sp. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan yaitu kontrol (MS), glutamin dengan konsentrasi 50 mg/l, 75 mg/l, 100 mg/l; arginin 50 mg/l, arginin 75 mg/l dan arginin 100 mg/l dengan masing-masing 3 ulangan. Data Kuantitatif dianalisis dan di uji Anova. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan glutamin 50 mg/l meningkatkan berat planlet sebanyak 0,096 g, tinggi planlet sebesar 12,9 mm, dan jumlah daun sebanyak 6 helai daun. Sedangkan glutamin 100 mg/l berpotensi meningkatkan jumlah tunas dengan rerata sebanyak 1,3. Pada perlakuan arginin konsentrasi 50 mg/l meningkatkan jumlah akar planlet sebanyak 2.

Kata kunci: Arginin, *Dendrobium* sp., Glutamin, Pertumbuhan.

ABSTRACT

Dendrobium sp. orchids are very popular because of the variety of shapes, colors, and beauty of their flowers. Special handling is required for the growth of orchids, such as providing proper nutrition to stimulate their growth. The composition of the culture medium significantly impacts the development of the planlets. Glutamine and arginine are amino acids that are widely used in tissue culture media. The addition of glutamine to the culture media makes orchid planlets naturally nitrogen-induced which can increase planlet growth. While exogenously induced arginine can increase nitric oxide levels, thus stimulating planlet root growth. This study aims to determine the effect of the addition of amino acids glutamine and arginine in the culture medium on the growth of orchid planlets *Dendrobium* sp. This study used a completely randomized design with 7 treatments, namely control (MS), glutamine with concentrations of 50 mg/l, 75 mg/l, 100 mg/l; arginine 50 mg/l, arginine 75 mg/l and arginine 100 mg/l with 3 replicates each. Quantitative data were analyzed and tested Anova. The results showed that glutamine 50 mg/l treatment increased the planlet weight by 0.096 g, planlet height by 12.9 mm, and the number of leaves by 6 leaves. While glutamine 100 mg/l has the potential to increase the number of shoots with an average of 1.3. In the arginine treatment, the concentration of 50 mg/l increased the number of planlet roots by 2.

Keywords: Arginine, *Dendrobium* sp., Glutamine, Growth.

*) Sinta Rahmawati, Program studi FMIPA UNISMA, Jl. MT. Haryono 193, Malang 65144. Telp 082232535536
E-mail: berhembus62@gmail.com

**) Ir. Tintrim Rahayu, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. MT Haryono 193, Malang 65144 Telp 08123308396
e-mail: tintrim.rahayu@unisma.ac.id

Pendahuluan

Anggrek merupakan tanaman hias yang terkenal dengan kecantikan dan keindahan bunganya. Genus anggrek terbesar kedua dalam keluarga Orchidaceae adalah *Dendrobium* sp. [1]. Anggrek memiliki nilai estetika yang tinggi dibandingkan tanaman hias lainnya, yang menarik minat para penggemar tanaman hias di seluruh dunia. Munculnya teknik kultur jaringan telah merevolusi praktik pertanian konvensional, khususnya dalam hal memperbanyak tanaman hias. Metode ini menawarkan pendekatan yang lebih terkontrol dan efisien.

Kultur jaringan telah menunjukkan efikasinya sebagai teknik propagasi anggrek yang paling unggul. Kultur jaringan terbukti efektif dalam menghasilkan sejumlah besar planlet angrek dengan karakteristik yang homogen [2]. Teknik kultur jaringan melibatkan isolasi dan pertumbuhan bagian tanaman tertentu, seperti jaringan, sel, atau organ, pada media aseptik dalam kondisi *in vitro*. Melalui teknik ini, eksplan tanaman dapat diregenerasi menjadi tanaman dewasa yang memiliki sistem akar, batang, dan daun yang fungsional. Media ini diformulasikan khusus dan bebas dari kontaminasi mikroorganisme untuk mendukung pertumbuhan dan regenerasi bagian tanaman menjadi planlet yang utuh dengan tunas, daun dan akar [3].

Glutamin merupakan asam amino yang paling sering ditambahkan ke dalam media kultur jaringan untuk mendukung pertumbuhan sel dan jaringan. Glutamin mendukung pertumbuhan sel yang memiliki kebutuhan energi tinggi dan mensintesis protein dan asam nukleat dalam jumlah besar [4]. Hal ini dapat menjadi sumber energi alternatif untuk sel yang membelah dengan cepat. Suplementasi glutamin pada media kultur bertujuan untuk mengakselerasi induksi dan proliferasi tunas pada tahap subkultur. Arginin memiliki peran esensial dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman melalui berbagai mekanisme, termasuk produksi poliamin dan sumber nitrioksida. Selain itu arginin juga menjadi sumber nitrioksida yang berperan penting dalam sinyal hormon, pertumbuhan akar, dan respon pertahanan tanaman [5]. Pertumbuhan anggrek umumnya tergolong lambat dibandingkan dengan tanaman hias lainnya. Hal ini memicu tantangan dalam memenuhi permintaan pasar yang terus meningkat [6]. Oleh karena itu, diperlukan komposisi media tanam yang dapat merangsang pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium* sp. Penambahan asam amino arginin ke dalam media tanam diprediksi mampu merangsang pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium* sp. secara signifikan. Berdasarkan latar belakang, penelitian mengenai penambahan asam amino glutamin dan arginin pada media kultur belum banyak dilakukan pada planlet anggrek *Dendrobium* sp. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh asam amino glutamin dan arginin untuk pertumbuhan anggrek *Dendrobium* sp.

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yakni botol kultur, gelas ukur, gelas beker, erlenmayer, cawan petri, pH meter, *Laminar Air Flow* (LAF), *magnetic stirrer*, alat diseksi (pinset, skalpel, gunting), timbangan analitik, penyemprot alkohol, rak kultur, autoklaf, *air conditioner* (AC), plastik, kertas label, isolasi, lampu, korek api, bunsen, kertas tisu, spidol marker, millimeter blok, *RHS Color Chart Guide* dan plastik wrap. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah anggrek *Dendrobium* sp. yang diperoleh dari Laboratorium Orchidologi dan Nursery Unisma Malang. Planlet yang digunakan adalah berumur 8 bulan. Bahan kimia penyusun media berupa, *Murashige and Skoog* MS (Caisson lab), Myo-inositol (Phygenera AD102), L-Arginin (Phygenera) dengan konsentrasi 50; 75; 100 mg/L, L-Glutamin (Caisson lab) dengan konsentrasi 50; 75; 100 mg/L, alkohol 70%, alkohol 96%, larutan KOH (1 N), larutan HCl (1 N), spirtus, aquades, detergen cair, agaragar (Dolphin), dan gula.

Metode

Penelitian dilakukan menggunakan metode eksperimental yang bersifat kuantitatif. Data berupa diagram dan akan dianalisis secara statistik. Rancangan penelitian ini berupa rancangan acak lengkap (RAL) dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah L-glutamin dan L-arginin. Sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi yang ditambahkan pada media yakni 50 mg/l; 75 mg/l; dan 100 mg/l.

K C	G100 B	G50 A
A50 A	G75 B	A75 C
K A	G100 C	A50 C
G75 C	A100 C	A75 B
G50 B	K B	G75 A
A75 A	G50 C	A100 C
A50 B	A100 B	G100 A

Gambar 1. *Layout* Perlakuan secara RAL. K= Kontrol; G50 = glutamin 50 mg/l; G75 = glutamin 75 mg/l; G100 = glutamin 100 mg/l; A50 = arginin 50 mg/l; A75 = arginin 75 mg/l; A100 = arginin 100 mg/l.

Perlakuan jenis dan konsentrasi asam amino glutamin dan arginin terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium* sp. terdapat 21 percobaan. Penelitian ini menggunakan botol jar terdiri atas 7 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 8 minggu.

Parameter penelitian: Berat planlet, perhitungan berat planlet dilakukan pada awal dan akhir penelitian dengan mengambil planlet menggunakan pinset, lalu memotong akar planlet serta membersihkan sisa media yang masih menempel, setelah itu ditimbang seluruh bagian planlet. Tinggi planlet, pengukuran tinggi planlet dari pangkal batang hingga ujung daun terpanjang menggunakan kertas millimeter yang dilakukan sebelum perlakuan dan di akhir perlakuan. Jumlah daun, pengamatan dilakukan pada awal sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan dengan menghitung jumlah daun per planlet. Jumlah akar, pengamatan dilakukan pada sesudah perlakuan dengan menghitung jumlah akar per planlet. Jumlah tunas, pengamatan pertumbuhan jumlah tunas dilakukan pada akhir setelah perlakuan dengan menghitung jumlah tunas per planlet. Warna daun, pengamatan warna daun dilakukan secara visual pada akhir penelitian dengan menyamakan warna daun planlet menggunakan *RHS Color Chart Guide*.

Sterilisasi Alat: Langkah kerja pada sterilisasi alat dilakukan secara dua tahap. Tahap pertama yaitu, skalpel, pinset, spatula, gelas beaker, gelas ukur, botol kultur, botol aquades steril dan Erlenmeyer direndam dengan *Clorox* sekitar 1 jam. Setelah 1 jam, alat dicuci dengan detergen cair sampai bersih, kemudian dibilas dengan air mengalir. Lalu ditiriskan hingga kering. Tahap kedua pada sterilisasi alat ini yaitu, skalpel, pinset, spatula, cawan petri dan batang pengaduk dibungkus dengan plastik wrap. Alat yang telah dibungkus kemudian dimasukkan kedalam plastik tahan panas dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Seluruh alat yang akan digunakan dalam LAF disemprot terlebih dahulu dengan alkohol 70%, lalu disemprotkan alkohol 96% dan dibakar dengan api Bunsen.

Sterilisasi Ruang Inisiasi: Ruang inisiasi yang digunakan adalah LAF. Ruang LAF disemprot menggunakan alkohol 70% dan dibersihkan bagian dalam LAF menggunakan tisu. Sebelum LAF digunakan, dipersiapkan alat-alat yang akan digunakan untuk inisiasi seperti pinset, bunsen, korek api, jas lab, masker dan cawan petri. Seluruh alat tersebut dimasukkan kedalam ruang LAF. Kemudian LAF ditutup menggunakan kain hitam dan dinyalakan sinar UV selama 60 menit.

Pembuatan Media MS (Kontrol): Pembuatan media MS dilakukan dengan menimbang MS instan 1,103 g, 5 g gula pasir, 2,5 g agar menggunakan timbangan analitik. Media MS dan 5 g gula pasir dimasukkan kedalam gelas beaker ukuran 500 mL. Aquades ditambahkan hingga mencapai 250 ml. Setelah bahan-bahan

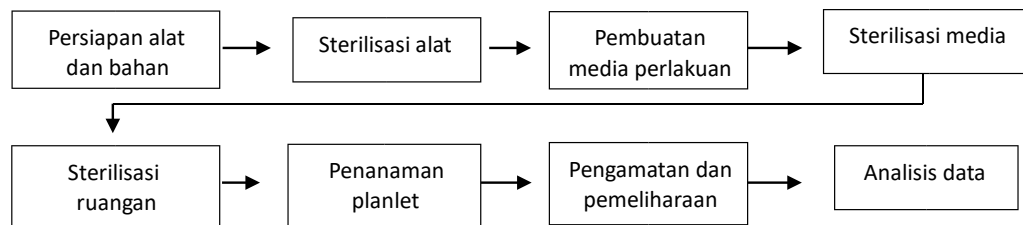
tersebut ditimbang dan diukur, kemudian larutan dihomogenkan menggunakan hot plate stirrer. Larutan media yang sudah homogen dipanaskan diatas kompor hingga mendidih. Selanjutnya larutan diukur pH pada kisaran 5,8 menggunakan pH meter. Apabila pH terlalu asam maka ditambahkan larutan NaOH dan apabila pH terlalu basa maka ditambahkan larutan HCl. Media dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 15 mL, lalu ditutup dengan plastik tahan panas, diikat menggunakan karet dan diberi label sesuai perlakuan. Langkah selanjutnya media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121oC dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang sudah steril dipindahkan ke rak kultur.

Pembuatan Media Perlakuan Glutamin: Pembuatan media dengan penambahan glutamin dilakukan dengan menimbang 1,103 g MS instan, 5 g gula pasir, dan 2,5 g agar, glutamin dengan konsentrasi 50; 75; 100 mg/l menggunakan timbangan analitik. Kemudian media MS dan 5 g gula pasir dimasukkan kedalam gelas beaker ukuran 500 mL dan ditambahkan aquades sampai 250 ml. Selanjutnya larutan dihomogenkan menggunakan hot plate stirrer, dan dipanaskan hingga mendidih diatas kompor. pH larutan diukur menggunakan pH meter pada kisaran 5,8. Media yang telah homogen dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 15 mL, lalu ditutup dengan plastik tahan panas dan diikat menggunakan karet. Kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121oC dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang sudah steril dipindahkan ke rak kultur.

Pembuatan Media Perlakuan Arginin: Pembuatan media MS dilakukan dengan menimbang media MS instan 1,103 g, L-arginin dengan konsentrasi 50 mg/l; 75 mg/l; 100 mg/l, 5 g gula pasir, 2,5 g agar menggunakan timbangan analitik. Setelah bahan-bahan tersebut ditimbang, ditambahkan aquades hingga 250 ml kedalam gelas beaker kemudian dihomogenkan menggunakan hot plate stirrer. Larutan yang telah homogen dipanaskan menggunakan kompor hingga mendidih. Kemudian pH larutan diukur dengan pH meter pada kisaran 5,8. Media dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 15 mL, lalu ditutup dengan plastik tahan panas, diikat menggunakan karet dan dilabeli sesuai perlakuan. Media perlakuan disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121oC dengan tekanan 1 atm.

Penanaman Planlet: Penanaman planlet dilakukan dengan cara mengambil planlet anggrek *Dendrobium* sp. menggunakan pinset, lalu akar dipotong dengan skalpel. Planlet ditimbang dan diukur panjang planlet dengan millimeter blok, lalu planlet di tanam pada media perlakuan. Tahap Pemeliharaan, Botol kultur disimpan pada rak yang berada di ruang kultur yang sebelumnya sudah dibersihkan menggunakan alkohol 70%. Kondisi lingkungan pemeliharaan menggunakan pencahayaan 2000 LUX. Setiap 3 hari sekali dilakukan penyemprotan alkohol 70% di sekitar lingkungan pemeliharaan agar meminimalisir adanya kontaminasi.

Diagram Alur Penelitian: Diagram alur penelitian terdiri dari beberapa tahap meliputi persiapan alat dan bahan, sterilisasi alat, sterilisasi ruangan, pembuatan media perlakuan, sterilisasi media, penanaman planlet, pengamatan dan pemeliharaan, analisis data (Gambar 2).



Gambar 2. Diagram alur penelitian

Analisis Data: Data yang diperoleh berupa angka kemudian dianalisis dengan uji *Analysis of Variance* (Anova). Data kuantitatif diperoleh dari berat planlet, panjang planlet, jumlah daun, jumlah akar dan jumlah tunas yang dianalisis secara statistik dengan uji normalitas yakni *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui konsentrasi glutamin dan arginin yang efektif untuk pertumbuhan anggrek *Dendrobium* sp. secara *in vitro*.

Apabila nilai signifikansi uji normalitas terdapat data yang normal maka dilanjutkan dengan Uji Homogenitas yakni Uji Bonferroni dan Uji Games-Howell menggunakan program *Statistica Package for Social Sciences* (SPSS) versi 16.

Hasil dan Diskusi

Hasil Penelitian

Hasil Analisis Perlakuan Glutamin terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek *Dendrobium* sp. secara *In Vitro*. Hasil Perlakuan glutamin 50 mg/l menjadi konsentrasi terbaik dalam parameter berat planlet dengan berat rata-rata 0,096 g, tinggi planlet dengan rata-rata 12,8 mm, dan jumlah daun dengan rata-rata 6 helai daun pada pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium* sp. (Tabel 1). Pada parameter jumlah tunas, hasil terbanyak didapati pada perlakuan glutamin 100 mg/l dengan rata-rata 1,3 tunas. Sejalan dengan [7] perlakuan dengan glutamin 100 ppm terbukti lebih unggul dalam merangsang pembentukan tunas pada kentang (*Solanum tuberosum*) dibandingkan dengan asam amino kasein hidrosolat dan glisin. Pada Gambar 3 dapat terlihat bahwa planlet *Dendrobium* sp. merespon penambahan glutamin dengan bertambahnya ketebalan batang planlet, tinggi planlet, jumlah daun dan warna planlet yang semakin hijau. Kondisi planlet sebelum diberi perlakuan glutamin terlihat bahwa warna planlet *Dendrobium* sp. memiliki warna hijau kekuningan, sedangkan setelah ditanam pada media perlakuan glutamin warna planlet terlihat lebih hijau segar.

Tabel 1. Hasil uji perlakuan glutamin terhadap pertumbuhan *Dendrobium* sp.

No.	Perlakuan Konsentrasi Glutamin (mg/L)	Parameter Penelitian				
		Berat Planlet (g)	Tinggi Planlet (mm)	Jumlah Daun	Jumlah akar	Jumlah Tunas
1	Kontrol	0,046 a	8,5 a	4 a	2 a	0,3 a
2	50	0,096 a	12,8 a	6 a	2 a	1 a
3	75	0,053 a	10,8 a	4 a	0,6 a	0,3 a
4	100	0,063 a	9 a	4 a	2 a	1,3 a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan pemberian glutamin tidak berbeda nyata berdasarkan uji Bonferroni dengan tingkat kepercayaan 95%.

Berdasarkan Tabel 1. Hasil analisis menunjukkan bahwa penambahan glutamin pada media tanam dengan konsentrasi 50 mg/l menjadi perlakuan terbaik untuk pertumbuhan planlet *Dendrobium* sp. antar parameter. Glutamin sebagai sumber nitrogen organik yang siap pakai berperan sebagai pemicu pertumbuhan sel eksplan. Dengan adanya glutamin, sel tidak perlu mengalokasikan energi untuk mensintesis glutamin dari prekursor anorganik, sehingga dapat lebih efisien dalam menjalankan proses metabolisme, termasuk pembelahan sel [8]. Glutamin merupakan faktor penting yang mendukung pembelahan sel dan mempertahankan totipotensi sel eksplan [9]. Glutamin berperan esensial dalam biosintesis berbagai senyawa bioaktif, termasuk asam amino, protein, dan hormon pertumbuhan tanaman seperti auksin [10].

Berat Planlet, Hasil penelitian menunjukkan berat planlet anggrek *Dendrobium* sp. pada perlakuan Glutamin 50 mg/l memiliki pengaruh yang tertinggi. Pada glutamin 50 mg/l memiliki berat 0,04 g pada 0

HST dan bertambah menjadi 0,28 g pada 60 HST. Rata-rata penambahan berat planlet *Dendrobium* sp. tertinggi didapati pada perlakuan 50 mg/l yaitu sebesar 0,0967 g, diikuti glutamin 100 mg/l sebesar 0,0633 g dan glutamin 75 mg/l sebesar 0,0533 g. Sedangkan perlakuan yang memiliki nilai rata-rata terendah yaitu kontrol, yakni sebesar 0,0467 g. Glutamin dengan konsentrasi 50 mg/l merupakan konsentrasi yang efektif untuk penambahan berat planlet anggrek *Dendrobium* sp. dengan ditandai semakin tebalnya batang planlet jika dibandingkan pada kondisi planlet sebelum ditanam pada media perlakuan.

Tinggi Planlet, Tinggi planlet diukur pada hari ke-0 dan 60 HST dengan menggunakan kertas milimeter untuk membandingkan pengaruh perlakuan terhadap pertumbuhan tanaman. Hasil penelitian pada variabel tinggi planlet dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan tinggi planlet anggrek *Dendrobium* sp. tertinggi terdapat pada perlakuan glutamin 50 mg/l. Glutamin dengan konsentrasi 50 mg/l menjadi konsentrasi paling optimal dalam penambahan tinggi planlet planlet *Dendrobium* sp. Hasil tertinggi didapati pada perlakuan glutamin 50 mg/l dengan rerata 12,8 mm. Sedangkan perlakuan kontrol memiliki rerata terendah yakni, sebesar 8,5 mm. Pada Gambar 3 terlihat bahwa perlakuan glutamin 50 mg/l mereduksi tinggi planlet yang paling efektif dibandingkan perlakuan lainnya.



Gambar 3. Hasil perlakuan glutamin terhadap tinggi planlet *Dendrobium* sp., a. sebelum, b. sesudah.

Pada Gambar 3 terlihat bahwa planlet *Dendrobium* sp. mengalami penambahan tinggi planlet secara signifikan pada perlakuan glutamin, jika dibandingkan dengan kondisi sebelum ditanam pada media perlakuan. Penambahan tinggi planlet ditandai dengan meningkatnya panjang daun dan batang planlet *Dendrobium* sp. Hasil perlakuan glutamin 50 mg/l dan 100 mg/l memperlihatkan bahwa planlet secara signifikan mempengaruhi penambahan tinggi planlet *Dendrobium* sp. Nitrogen yang terkandung dalam glutamin berperan sebagai substrat esensial dalam proses translasi, yakni sintesis protein. Komponen nitrogen ini terintegrasi ke dalam rantai polipeptida, membentuk pondasi struktural dan fungsional protein yang krusial bagi pertumbuhan dan perkembangan sel serta jaringan tanaman.

Pertumbuhan tinggi planlet tertinggi terdapat pada perlakuan glutamin 50 mg/l disebabkan karena adanya meningkatnya sintesis protein. [11] mengungkapkan bahwa glutamin berperan sebagai sumber nitrogen utama yang berkontribusi signifikan terhadap peningkatan laju pertumbuhan. Glutamin dan glutamat merupakan donor nitrogen utama dalam jalur biosintesis asam amino, asam nukleat, dan senyawa nitrogen lainnya pada. Menurut [12] bahwa nitrogen terbukti menjadi faktor kunci dalam merangsang pertumbuhan vegetatif tanaman, dengan pengaruh yang paling menonjol pada peningkatan tinggi tanaman.

Nitrogen dalam berbagai bentuk senyawa menyediakan nitrogen yang dibutuhkan tanaman untuk proses metabolisme dan pertumbuhan. Glutamin juga membantu meningkatkan penyerapan nutrisi yang terdapat pada media tanam.

Jumlah Daun, hasil perlakuan tertinggi terdapat pada glutamin 50 mg/l dengan rata-rata jumlah daun 5,67, diikuti glutamin 75 dan glutamin 100 mg/l dengan jumlah rata-rata 4. Hasil uji univariat menunjukkan bahwa antar perlakuan tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap pertambahan jumlah daun planlet (Tabel 1). Hal ini karena dengan menambahkan sumber nitrogen organik dalam bentuk asam amino ke dalam media tanam MS belum dapat meningkatkan regenerasi planlet *Dendrobium* sp. selama pengkulturan. Pertumbuhan anggrek yang lambat dan ketersediaan nitrogen anorganik memadai dalam media kultur membuat penambahan glutamin tidak optimal terhadap penambahan jumlah daun planlet.

Jumlah Akar, Berdasarkan Gambar 3 penambahan jumlah akar terbanyak terdapat pada perlakuan kontrol yakni dengan rata-rata 2,5, diikuti glutamin 50 mg/l dan glutamin 100 mg/l dengan rata-rata jumlah akar 2 dan hasil terendah pada glutamin 75 mg/l dengan hasil rata-rata 0,6. Hasil uji perbandingan univariat memperlihatkan bahwa penambahan beberapa konsentrasi glutamin pada media pertumbuhan anggrek *Dendrobium* sp. berpengaruh tidak nyata terhadap pertambahan jumlah akar planlet. Beberapa faktor kompleks dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan jumlah akar, seperti interaksi genetika, lingkungan dan nutrisi secara keseluruhan.

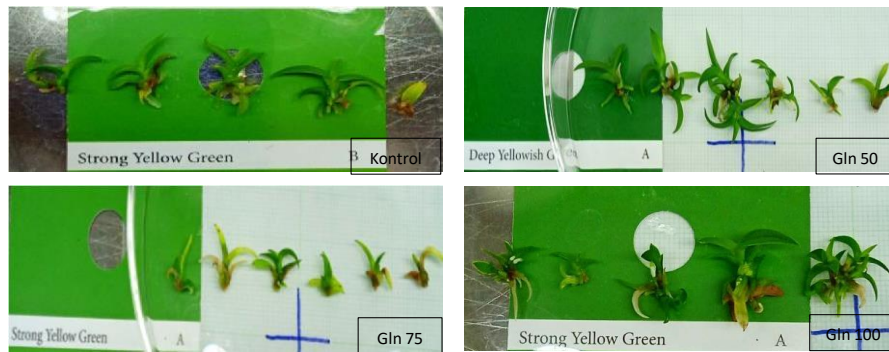
Jumlah Tunas, Konsentrasi glutamin 100 mg/l memberikan hasil yang paling optimal dalam merangsang pembentukan tunas, dengan rata-rata jumlah tunas mencapai 1,3 (Gambar 3). Peran dari penambahan glutamin pada media pertumbuhan planlet dapat merangsang poliferasi sel dan pembelahan sel pada planlet. Seperti hasil penelitian yang dilakukan [13], bahwa dengan menambahkan glutamin 100 mg/l pada media tanam kultur dapat mempercepat proses pembelahan sel dan pertumbuhan tunas pada tanaman. Glutamin berfungsi sebagai sumber nitrogen yang penting dalam membentuk asam amino dan protein yang merupakan komponen utama dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Dengan menambahkan glutamin 100 mg/l pada planlet dapat lebih efisien dalam menyerap dan memanfaatkan nutrisi yang ada dalam media tanam, sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tunas. Menurut [13] suplementasi glutamin 100 mg/l secara signifikan merangsang pertumbuhan tunas adventif pada tanaman tebu (*Saccharum officinarum*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan ini menghasilkan pertumbuhan tunas yang lebih optimal dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa penambahan glutamin.

Warna Daun, Hasil pengamatan menunjukkan bahwa warna daun planlet anggrek *Dendrobium* sp. memiliki variasi warna yang berbeda pada setiap perlakuan (Tabel 2). Pengamatan warna daun anggrek diukur menggunakan *RHS Color Chart Guide* yang dilakukan diakhir penelitian. Pengamatan perubahan warna daun planlet dijadikan sebagai indikator kandungan klorofil pada daun. Semakin gelap warna hijau menunjukkan semakin tinggi kandungan klorofilnya.

Pada Gambar 4 daun planlet pada masing-masing perlakuan memiliki tingkat warna yang berbeda-beda pada setiap perlakuan setelah ditanam pada media ditambahkan glutamin. Pada perlakuan MS warna daun berubah menjadi *Green Group* 143 (*Strong Yellow Green B*). Perlakuan glutamin 50 mg/l memiliki warna daun *Green Group* 141 (*Deep Yellowish Green A*), sedangkan glutamin 75 mg/l dan glutamin 100 mg/l memiliki tingkat warna daun yang sama yakni *Green Group* 143 (*Strong Yellow Green A*). Perbedaan konsentrasi asam amino glutamin mempengaruhi warna daun. Tanaman anggrek *Dendrobium* sp. pada media tanam yang ditambahkan glutamin 50 mg/l memiliki warna hijau yang lebih tua jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Warna hijau tua pada daun yang diberi perlakuan glutamin disebabkan oleh adanya kandungan nitrogen (N), magnesium (Mg), dan mangan (Mn) yang cukup dalam media tanam. Unsur-unsur ini berperan penting dalam proses pembentukan klorofil, pigmen hijau yang berperan dalam fotosintesis.

Tabel 2. Hasil Uji Perlakuan Glutamin terhadap Variasi Warna Daun pada Planlet Anggrek *Dendrobium* sp.

No	Perlakuan	Warna daun (60 HST)
1.	Kontrol	Strong Yellow Green 143 B
2.	Gln 50	Deep Yellowish Green 141 A
3.	Gln 75	Strong Yellow Green 143 A
4.	Gln 100	Strong Yellow Green 143 A



Gambar 4. Variasi warna daun pada planlet anggrek *Dendrobium* sp. sesudah perlakuan glutamin selama 2 bulan.

Meskipun beberapa daun terlihat memiliki warna sedikit kekuning-kuningan seperti pada perlakuan glutamin 75 mg/l, hal ini dikarenakan jumlah klorofil yang dibentuk menurun. Penambahan glutamin mampu mencegah pelayuan dini. Klorofil merupakan zat hijau daun yang diperlukan dalam proses fotosintesis. Menurut [14] perbedaan morfologi kloroplas yang mencolok antara tanaman berdaun kuning dan hijau, ditandai dengan penurunan jumlah grana dan lamellae grana pada tanaman berdaun kuning, berkorelasi dengan defisiensi klorofil dan gangguan pada sistem fotosintesis. Tinggi rendahnya kadar klorofil dalam daun berkorelasi positif dengan kapasitas fotosintetik tanaman [15]. Menurut [16] pada daun yang masih muda daun terlihat berwarna pucat dikarenakan jumlah kloroplas yang terbentuk pada daun masih sangat terbatas.

Tabel 3. Hasil Uji Perlakuan Arginin pada Pertumbuhan Planlet Anggrek *Dendrobium* sp.

NO	Perlakuan konsentrasi Arginin (mg/L)	Parameter Penelitian				
		Berat Planlet (g)	Tinggi Planlet (mm)	Jumlah Daun	Jumlah akar	Jumlah Tunas
1.	Kontrol	0,046 a	8,5 a	4 a	2,4 a	0,3 a
2.	50	0,066 a	12,5 a	5 a	2,4 a	1,3 a
3.	75	0,046 a	12,5 a	5 a	2,1 a	1 a
4.	100	0,046 a	9,1 a	5 a	2,2 a	1 a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan pemberian arginin tidak berbeda nyata berdasarkan uji Bonferroni dengan tingkat kepercayaan 95%.

Hasil Analisis Perlakuan Arginin terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek *Dendrobium sp.* secara *In Vitro*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan arginin pada media tanam kultur tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium sp.* Meskipun begitu, pertumbuhan planlet *Dendrobium sp.* menunjukkan respon yang berbeda antar perlakuan. Arginin 50 mg/l menjadi konsentrasi terbaik terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium sp.* pada setiap parameter (Tabel 3). Pemberian arginin pada media tanam menjadikan planlet terinduksi nitrogen sehingga membantu jalannya fotosintesis pada tanaman. Asam amino yang disuplementasikan berperan sebagai prekursor dalam biosintesis fitohormon dan regulator pertumbuhan, sehingga secara tidak langsung merangsang berbagai proses fisiologis tanaman [17].

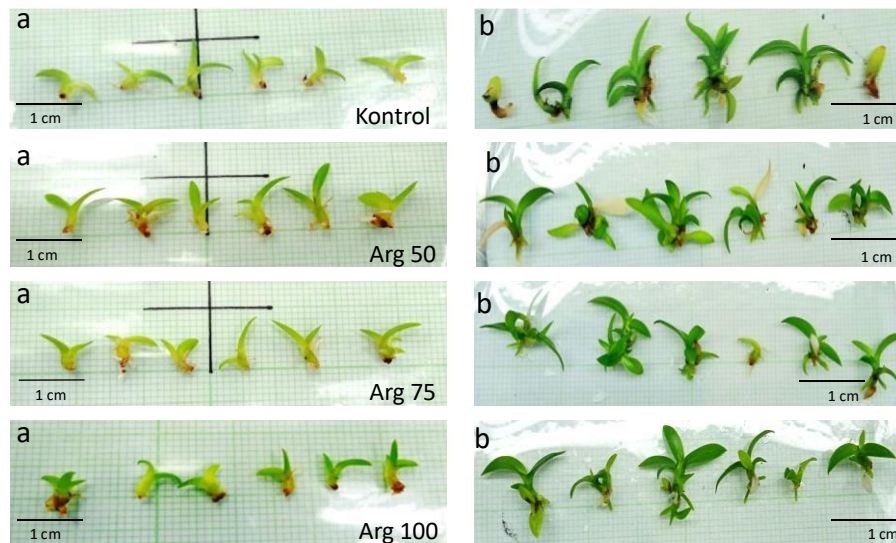
Hasil penelitian dengan penambahan beberapa konsentrasi arginin pada media pertumbuhan anggrek *Dendrobium sp.* menunjukkan respon yang baik pada sesudah diberi arginin (Gambar 5). Pada Gambar 5 memperlihatkan bahwa planlet *Dendrobium sp.* setelah ditumbuhkan pada media dengan penambahan arginin menunjukkan hasil yang baik dengan bertambahnya massa planlet, tinggi planlet, bertambahnya jumlah daun, jumlah tunas juga planlet yang terlihat lebih hijau dibanding sebelum ditanam pada media dengan penambahan arginin. Arginin dengan konsentrasi 50 mg/l dapat meningkatkan pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium sp.*

Berat Planlet, Hasil pengamatan pada berat planlet menunjukkan adanya penambahan berat planlet *Dendrobium sp.* Pada arginin konsentrasi 50 mg/l memiliki berat rata-rata 0,066 yang menjadikan konsentrasi paling efektif dalam penambahan berat planlet *Dendrobium sp.*, lalu diikuti perlakuan arginin 75, 100 mg/l dan kontrol memiliki rata-rata berat planlet 0,046. Hasil uji *Games Howell* menunjukkan tidak adanya perubahan signifikan antar perlakuan berdasarkan berat planlet. Meskipun arginin menjadi salah satu asam amino yang penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman, hal ini ternyata belum dapat mencukupi kebutuhan pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium sp.* [18] Interaksi dinamis antara zat eksogen dalam media dan zat endogen dalam sel merupakan faktor penentu utama dalam perkembangan kultur.

Tinggi Planlet, Pengambilan data tinggi planlet dilakukan pada awal sebelum perlakuan dan akhir pengamatan. Berdasarkan hasil penelitian, planlet anggrek *Dendrobium sp.* mengalami melebarnya ruas batang dan pertumbuhan daun yang menunjukkan semakin bertambahnya tinggi planlet *Dendrobium sp.* setelah ditanam pada media dengan modifikasi arginin didalamnya. Pada Gambar 5 rata-rata tinggi planlet yang terbentuk paling tinggi terdapat pada konsentrasi arginin 50 mg/l dan 75 mg/l sebesar 12,5 mm, kemudian diikuti arginin 100 mg/l sebesar 9,1 mm. Sedangkan kontrol menjadi hasil terendah yaitu 8,5 mm.

Gambar 5 memperlihatkan perubahan kondisi planlet *Dendrobium sp.* sebelum diberi perlakuan dan sesudah diberi perlakuan arginin. Kondisi planlet sebelum perlakuan terlihat hanya memiliki rata-rata tinggi planlet sekitar 0,074 cm, sedangkan setelah ditanam pada media perlakuan arginin tinggi planlet *Dendrobium sp.* bertambah tinggi sekitar 1,2 cm. Fenomena ini menunjukkan bahwa penambahan arginin efektif dalam pertumbuhan tinggi planlet *Dendrobium sp.* Seperti pada arginin 50 mg/l terlihat planlet mengalami penambahan tinggi dengan ditandai adanya perpanjangan daun dan melebarnya ruas batang planlet. Arginin dengan konsentrasi 50 dan 75 mg/l menjadi konsentrasi terbaik dalam penambahan tinggi planlet *Dendrobium sp.*

Hasil Uji Bonferroni dengan taraf 5% menyatakan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antar perlakuan berdasarkan parameter tinggi planlet. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian [19] yang menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi arginin menyebabkan peningkatan jumlah tunas per eksplan namun tidak secara signifikan mempengaruhi tinggi tanaman. Arginin 50 dan 75 mg/l menjadi konsentrasi paling optimal untuk pertumbuhan tinggi planlet *Dendrobium sp.* secara *in vitro*. Pertumbuhan tinggi tanaman dapat terjadi karena adanya pembelahan sel dan pemanjangan sel-sel pada batang tanaman sehingga batang semakin memanjang.



Gambar 5. Hasil perlakuan arginin terhadap tinggi planlet *Dendrobium* sp., a. sebelum, b. sesudah.

Jumlah Daun, Berdasarkan data yang diperoleh antara rata-rata jumlah daun planlet secara keseluruhan, didapatkan bahwa penambahan arginin pada media tanam masing-masing planlet mengalami penambahan jumlah daun. Jumlah daun yang tertinggi dihasilkan pada seluruh perlakuan arginin yakni dengan rata-rata jumlah daun 5. Sedangkan perlakuan kontrol menjadi perlakuan dengan hasil rendah yakni 4. Jumlah daun pada pertumbuhan tanaman adalah penentu utama kebugaran tanaman secara keseluruhan. Hal ini disebabkan oleh peran penting yang dimainkan daun dalam fotosintesis berbagai aktivitas metabolisme lainnya. Produksi fotosintat yang besar dari jumlah banyaknya daun akan meningkatkan perkembangan tanaman. Fenomena ini terjadi karena tanaman mengubah fotosintat berupa glukosa menjadi energi dalam bentuk ATP melalui aktivitas metabolisme sel yang sebanding dengan jumlah daun yang dimilikinya. Tumbuhan menggunakan ATP untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan organ-organnya [20].

Jumlah Akar, Hasil penelitian memperlihatkan bahwa planlet anggrek *Dendrobium* sp. merespon pertumbuhan akar antar perlakuan. Seperti pada perlakuan arginin dengan konsentrasi 50 mg/l memiliki rata-rata jumlah akar sebanyak 2,4 begitu juga pada perlakuan kontrol. Dilanjutkan arginin 100 mg/l sebanyak 2,3 dan arginin 75 mg/l dengan rata-rata 2 (Gambar 5). Hasil uji univariat menunjukkan tidak adanya perbedaan antar perlakuan terhadap parameter jumlah akar (Tabel 3). Pada penelitian [21] menunjukkan bahwa diperlukannya kombinasi antara zat pengatur tumbuh seperti Indola-3-Butirat dengan kadar rendah untuk meningkatkan jumlah akar per planlet. Nitrioksida dari arginin ialah zat yang penting untuk pertumbuhan akar [5].

Jumlah Tunas, Pengamatan jumlah tunas dilakukan pada akhir penelitian. Hasil pengamatan yang dilakukan pada jumlah tunas menampakkan bahwa perlakuan arginin 50 mg/l mengalami penambahan jumlah tunas sebanyak 1,3 diikuti arginin 75 dan 100 mg/l dengan rata-rata 1. Sedangkan pada perlakuan kontrol memiliki jumlah tunas terendah terbanyak yaitu 0,3. Planlet anggrek pada media arginin konsentrasi 50 mg/l merespon pertumbuhan tunas dengan rata-rata 1,3 dan menjadi hasil tertinggi diantara perlakuan lainnya.

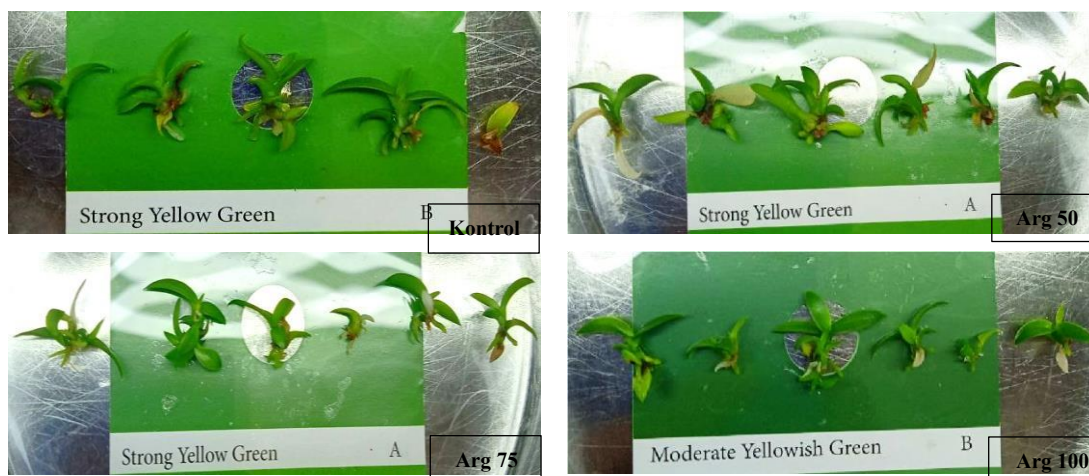
Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan [22] bahwa penambahan arginin 50 mg/l dapat memacu pertumbuhan tunas dan menjadi konsentrasi paling optimal untuk pertumbuhan tunas. Sebagai

prekursor poliamin, arginin berperan krusial dalam merangsang pertumbuhan dan perkembangan tanaman melalui sintesis bersama ornitin. Pendapat ini sejalan dengan [23] bahwa jumlah tunas meningkat dengan medium yang ditambahkan arginin konsentrasi 30 ppm hingga 50 ppm.

Warna Daun, Pada masing-masing perlakuan konsentrasi arginin menghasilkan warna yang tidak jauh berbeda antar perlakuan (Tabel 4). Pengamatan warna daun planlet diambil menggunakan RHS yang dilakukan pada akhir penelitian untuk memperlihatkan adanya perbedaan warna daun planlet pada setiap perlakuan. Perlakuan berbagai konsentrasi arginin berpengaruh terhadap perubahan warna daun planlet anggrek *Dendrobium* sp. Pada pemberian arginin konsentrasi 100 mg/l menampakkan warna hijau daun lebih gelap. Kandungan klorofil pada daun hijau kekuningan 32% lebih tinggi daripada pada daun warna hijau muda dan kandungan klorofil pada daun tua 72% lebih banyak daripada daun warna hijau muda [24]. Pigmen warna klorofil ditemukan dalam kloroplas yang menjadi tempat fotosintesis berlangsung.

Tabel 4. Hasil Uji Perlakuan Penambahan Arginin terhadap Variasi Warna Daun pada Planlet Anggrek *Dendrobium* sp.

No	Perlakuan	Warna daun
1.	Kontrol	Strong Yellow Green 143 B
2.	Arg 50	Strong Yellow Green 143 A
3.	Arg 75	Strong Yellow Green 143 A
4.	Arg 100	Moderate Yellowish Green 139 B



Gambar 6. Variasi warna daun planlet *Dendrobium* sp. setelah diberi perlakuan arginin.

Warna daun planlet pada akhir perlakuan menunjukkan adanya beberapa variasi warna. Arginin dengan konsentrasi 100 mg/l memiliki warna daun lebih hijau yakni *Green Group* 139 (*Moderate Yellowish Green* B) sedangkan arginin 50 dan 75 mg/l menampakkan warna daun yang sama yaitu *Green Group* 143 (*Strong Yellow Green* A) (Gambar 6). Hal tersebut menandakan bahwa pemberian arginin pada planlet anggrek *Dendrobium* sp. mempengaruhi warna daun. Penambahan arginin secara eksogen mempengaruhi warna daun dikarenakan adanya kandungan nitrogen yang tinggi pada komposisi media yang digunakan. Nitrogen sendiri berfungsi sebagai penyusun klorofil yang terkandung dalam daun. Daun yang berwarna hijau disebabkan adanya kandungan klorofil yang merupakan pigmen utama yang terdapat pada membrane tilakoid. Kandungan klorofil yang tinggi pada daun dapat meningkatkan kapasitas tanaman dalam melakukan fotosintesis pada masa pertumbuhannya.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan tentang pengaruh asam amino glutamin dan arginin terhadap pertumbuhan *Dendrobium* sp. dapat disimpulkan sebagai berikut: Penambahan glutamin berpengaruh tidak nyata antar parameter pada pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium* sp., namun konsentrasi glutamin 50 mg/l menjadi konsentrasi yang efektif dalam penambahan berat planlet sebanyak 0,096 g, tinggi planlet sebesar 12,8 mm, dan jumlah daun sebanyak 6 helai daun. Sedangkan glutamin dengan konsentrasi 100 mg/l menjadi konsentrasi yang optimal untuk penambahan jumlah tunas yaitu sebesar 1,3. Penambahan arginin secara eksogen tidak berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan planlet *Dendrobium* sp. antar parameter. Namun, arginin 50 mg/l berpotensi dalam penambahan berat planlet sebesar 0,066 g; tinggi planlet sebesar 12,5 mm; jumlah daun sebanyak 5 helai daun dan jumlah tunas sebesar 1,3.

Daftar Pustaka

- [1] Setyowati, D.A., Rahayu, T., Jayanti, G. E., Agisimanto, D. (2023). Pengaruh Variasi Konsentrasi Indole Butyric Acid (IBA) pada Anggrek (*Dendrobium hybrid*) terhadap Pertumbuhan dan Survival dalam Media Cocopeat. *E-Jurnal Ilmiah Sains Alami* 5(2): 38-48.
- [2] Santoso, E., Rahayu, T., Hayati, A. (2020). Pengaruh Air Kelapa (*Cocos nucifera* L) dengan Medium VW terhadap Pertumbuhan Protocorm Anggrek secara *in vitro*. *Jurnal Ilmiah Sains Alami (Known Nature)*. 3: 37-43.
- [3] Rahmah S, Rahayu, T., Hayati, A. (2018). Kajian Penambahan Bahan Organik pada Media Tanam VW pada Organogenesis Anggrek *Dendrobium* secara *In Vitro*. *Sains Alami*. 1(1).
- [4] Dong, L.X, Wei, Y., Yu, J., Wang, Y., You, X.Q. (2014). Glutamine Prekursor Supplementation Increases Glutamine Synthetase Gene Expression in Intestine of Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Research* (John Willey & Sons, Ltd). 45(9): 1559-1566.
- [5] Crawford N.M. (2006). Mechanisms for Nitric Oxide Synthesis in Plants. *Journal of experimental botany*. 57: 471-478.
- [6] Firdausy N.A., Rahayu, T., Jayanti, G. E., Agisimanto, D. ??????. Pengaruh Variasi Konsentrasi Indole Butyric Acid (IBA) pada Anggrek (*Dendrobium hybrid*) terhadap Survival dan Pertumbuhan dalam Media Arang. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis*. 9 (1): 22-32.
- [7] Maysyaroh, Q A. Netty E. (2018). Efektifitas Jenis Asam Amino dan Variasi Konsentrasi Sukrosa terhadap Pertumbuhan Planlet Kentang (*Solanum tuberosum* L.).
- [8] Asharo, K.R, Ermavitalini, D., Nurmalasari. (2013). Pengaruh Media MS dengan Penambahan Glutamin 100 ppm terhadap Respon Pertumbuhan dan Perkembangan Kultur Tunas Aksilar Tebu (*Saccharum officinarum*) Varietas NXI 1-3 dan THA secara *In Vitro*. *Jurnal Sains dan Semi Pomits*. 2 (1).
- [9] Ogita S, Sasamoto, H., Yeung, E.C., Thorpe, T.A. (2001). The Effects of Glutamine on the Maintenance of Embryogenic Cultures of *Cryptomeria japonica*. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. 37: 268-273.
- [10] Winkel, S. B. (2002). Biosynthesis of Flavonoids and Effects of Stress. *Current Opinion in Plant Biol*. 5: 218-223.
- [11] Hamasaki, R.M., Eduardo, P., Mercier, H. (2005). Glutamine Enhances Competence for Organogenesis in Pineapple Leaves Cultivated *In Vitro*. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 17 (4).
- [12] Lakitan, B. (1996). *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman*. PT Raja Grafindo Persada: Jakarta.

-
- [13] Hadjo, P. H. (2013). Perbanyak Mikro Tebu (*Saccharum spp. hybrids*) melalui Kultur Kalus. *Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi*. 7 (1).
- [14] Rahayu, T., G.E. Jayanti & A. Hayati. 2023. Induksi *Nanobubbles* (NBs) untuk pertumbuhan anggrek *Dendrobium Imelda Marina Masagung X Bumi Menangis*. *Journal of Biology Sciences*. 10 (1): 126-132.
- [15] Setiawati, T., Saragih, I A., Nurzaman, M., Mutaqin, A.Z. (2016). Analisis Kadar Klorofil dan Luas Daun Lampeni (*Ardisia humilis* Thunberg) pada Tingkat Perkembangan yang Berbeda di Cagar Alam Pangandaran. Prosiding Seminar Nasional MIPA 2016. 25(1): 122-126.
- [16] Lesfrud, M.G., Kopsell, D.A. Kopsell, D.E. (2007). Nitrogen levels influence biomass, elemental accumulations, and pigment concentrations in spinach. *J. Plant Nut.* 30:171-185.
- [17] Fitriani, D., Miswar, Sholikhah, U. (2015). Pengaruh Pemberian Asam Amino (Glisin, Sistein dan Arginin) terhadap Pembentukan Tunas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara *In Vitro*. *Berkala Ilmiah Pertanian*. 10 (10).
- [18] Anwar, N. (2007). Pengaruh Media Multiplikasi Terhadap Pembentukan Akar pada Tunas *In Vitro* Nenas (*Ananas comocus* (L.) Merr.) cv. Smooth Cayenne di Media Pengakaran. Skripsi. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 37 hal.
- [19] Sotiropoulos T., Dimassi, K., Therios, I.N. (2005). Effects of L-Arginine and L-cysteine on Growth, and Chlorophyll and Mineral Content of Shoots of the Apple Rootstock EM 26 Cultured In Vitro. *Biologia Plantarum*. 49(3): 443-445.
- [20] Purnamasari, A., Ratnawati, S., Aloysius, L., Sugiyarto, Mercuriani, I.S. (2020). Optimasi Media Kultur *In Vitro* Anggrek *Dendrobium nobile* Berbasis Pupuk. *Jurnal Penelitian Saintek*. 25(2):157-172.
- [21] Dastgahian F.S., Valizadeh., J., Einali, A., Cheniany, M. (2022). Exogenous Arginine Treatment Additively Enhances Growth and Tolerance of *Salicornia Europaea* Seedlings Under Salinity. *Acta Botanica Croatica*. 8 (2): 213-220.
- [22] Rasullah, F. F. F., T. Nurhidayati & Nurmalasari. (2013). Respon Pertumbuhan Tunas Kultur Meristem Apikal Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*) Varietas NXI 1-3 secara *In Vitro* pada Media MS dengan Penambahan Arginin dan Glutamin. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(2).
- [23] Purnamaningsih, R. (2006). Induksi Kalus dan Optimasi Regenerasi Empat Varietas Padi melalui Kultur *In Vitro*. *Jurnal AgroBiogen*. 2 (74-80).
- [24] Sumenda, L., Rampe, L.H., Mantiri, F.R. (2011). Analisis Kandungan Klorofil Daun Mangga (*Mangifera Indica* L.) Pada Tingkat Perkembangan Daun Yang Berbeda. *Bioslogos*. 1 (1): 20-24.