

**INDUKSI TUNAS DAN PEMBENTUKAN AKAR DARI EKSPLAN KOTILEDON
JERUK SIAM (*CITRUS NOBILIS* LOUR.) ASAL KAMPAR SECARA *IN VITRO***

**(SHOOT INDUCTION AND ROOTING OF COTYLEDON EXPLANT SIAM
ORANGE (*CITRUS NOBILIS* LOUR.) FROM KAMPAR USING *IN VITRO*
TECHNIQUE)**

Mayta Novaliza Isda¹, S. Fatonah¹, W. Lestari¹, E.Y. Hutapea¹ dan L. Purba¹

¹ Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau

E-mail: maytaisda@yahoo.com

ABSTRACT

Tissue culture was an alternative way in micropropagation of siam orange (*Citrus nobilis* Lour.) from Kampar one of the main commodity in Riau province. Shoot induction as an early stage propagation and the rooting stage were very important parts to produce plantlet *in vitro* technique. The aim of this study was to determine the best BAP and NAA concentration for shoot induction and rooting of siam orange from Kampar. This study using a randomized block design with faktorial treatment. The results of this study show that the best shoot induction was obtained from cotyledon explant grown on MS medium without BAP. The percentage and the average number of shoot were 91,67% and 1,50 respectively. The combination of MS medium with 1 mg/L NAA was the most optimum concentration in rooting induction of siam orange from Kampar, with the percentage of root growth and the highest average number of root 90% and 6.3 roots respectively.

Key words: *in vitro*, *Citrus nobilis* Lour., BAP, NAA, cotyledon explant

ABSTRAK

Kultur *in vitro* adalah cara alternatif perbanyakan jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour.) asal Kampar yang merupakan salah satu komoditas andalan provinsi Riau. Induksi tunas merupakan tahap awal dalam perbanyakan tanaman dan tahap perakaran, merupakan bagian penting terhadap pembentukan plantlet secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi BAP dan NAA dalam menginduksi tunas dan perakaran jeruk siam asal Kampar. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan faktorial. Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi tunas terbaik diperoleh dari MS tanpa BAP dengan persentase dan jumlah dari tunas sebanyak 91,67% dan 1,5 tunas. Kombinasi medium MS dengan 1 mg/L NAA merupakan perlakuan terbaik dan optimal dalam menginduksi perakaran jeruk siam asal Kampar dengan konsentrasi optimum terbaik dan jumlah perbentukan akar tertinggi sebanyak 90% dan 6,3 akar.

Kata kunci: *In vitro*, jeruk siam, BAP, NAA, eksplan kotiledon



1 PENDAHULUAN

Tanaman jeruk merupakan empat komoditas andalan hortikultura Propinsi Riau disamping nenas, durian dan pisang. Tanaman jeruk tersebar di seluruh propinsi Riau. Penanaman terluas berada di Kabupaten Rokan Hulu dan Kampar (1). Pada umumnya tanaman jeruk di Propinsi Riau didominasi oleh jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour.). Jeruk siam di Kabupaten Kampar merupakan hasil hortikultura yang berpotensi sebagai komoditas agribisnis di Propinsi Riau. Distribusi jeruk siam Kampar sudah mencapai keluar propinsi seperti Sumatera Barat dan Jakarta. Akan tetapi, saat ini terjadi penurunan luas lahan tanam jeruk siam di Kabupaten Kampar. Pada tahun 2002 luas tanam jeruk siam mencapai 4.249 ha dengan produksi 33.569 ton. Sedangkan pada tahun 2005 luas tanam jeruk menurun menjadi 1.548 ha.

Jeruk siam asal 'Kampar' perlu dilestarikan guna mempertahankan dan menyelamatkan keberadaannya, oleh sebab itu perlu pengadaan bibit dalam jumlah yang banyak. Perbanyak tanaman jeruk dapat dilakukan secara generatif dan vegetatif. Perbanyak bibit jeruk siam dapat dilakukan secara generatif menggunakan biji dan secara vegetatif dengan okulasi, setek dan cangkok. Kedua perbanyak ini membutuhkan tanaman induk yang lebih banyak, jumlah bibit yang dihasilkan sedikit dan waktunya lama. Keterbatasan tanaman induk menjadi kendala dalam pengadaan bibit jeruk siam dalam skala besar. Salah satu alternatif perbanyak tanaman dapat dilakukan dengan perbanyak secara *in vitro*. Perbanyak tanaman secara *in vitro* menawarkan peluang besar untuk menghasilkan jumlah bibit yang banyak dalam waktu relatif singkat dengan menggunakan bahan tanaman yang sedikit. Hasilnya dapat lebih menguntungkan karena sifatnya akan sama dengan induknya (seragam) dan dalam waktu yang singkat bibit dapat diproduksi dalam jumlah banyak dan bebas penyakit

Keberhasilan *in vitro* tergantung jenis dan bagian tanaman yang dipakai sebagai eksplan, kondisi kultur dan zat pengatur tumbuh yang diberikan pada media (2). Zat pengatur tumbuh berfungsi untuk menstimulasi pertumbuhan eksplan misalnya kalus, akar dan tunas (3). Konsep hormon dalam pembentukan organ, yaitu adanya keseimbangan antara rasio auksin dan sitokinin. Rasio auksin yang tinggi akan memacu pertumbuhan dari akar, sedangkan rasio sitokinin yang tinggi akan memacu pertumbuhan tunas, jika rasio auksin dan sitokinin sama akan membentuk kalus (4). Faktor eksogen meliputi faktor pH, kelembaban, cahaya, temperatur dan media (5).

Tahapan kultur jaringan yang umum dilakukan untuk tujuan mikropropagasi antara lain: induksi tunas, multiplikasi, induksi akar (pembentukan planlet) dan aklimatisasi. Salah satu eksplan yang dapat digunakan untuk induksi tunas adalah biji. Beberapa biji dari tumbuhan bersifat poliembrioni termasuk biji jeruk yang jika dikecambahkan akan menghasilkan dua macam anakan yaitu anakan generatif yang berasal dari fertilisasi (zigot) dan anakan vegetatif atau disebut anakan nuselar yang berasal dari embrio yang terbentuk dari sebuah atau sekelompok sel pada nuselus. Embrio nuselar mempunyai sifat yang sama dengan induknya (6). Kotiledon merupakan bagian biji yang mengandung embrio nuselar (7).



Penelitian yang dilakukan oleh Ramkrishna *et al.* (8) pada eksplan kotiledon yang diuji dengan penanda *Random Amplification of Polymorphic DNA* dari hasil perbanyakan jeruk secara *in vitro* menunjukkan sifat yang sama dengan induknya. Keberhasilan aklimatisasi ini dipengaruhi oleh kondisi eksplan, salah satunya adalah keberhasilan perakaran. Tunas *in vitro* pada media induksi atau multiplikasi pada umumnya tidak mempunyai akar yang cukup untuk langsung diaklimatisasi. Oleh karena itu, tunas *in vitro* yang dihasilkan perlu disubkultur pada media perakaran. Pembentukan akar dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh dan jenis media yang digunakan (3).

Media MS (Murashige and Skoog) merupakan media yang banyak digunakan dalam kultur jaringan. Menurut Razdan (4) dan George *et al.* (9), kandungan garam yang tinggi dapat menghambat perakaran. Oleh karena itu, banyak penelitian yang menggunakan media dengan kandungan garam yang lebih rendah dari media induksi atau multiplikasi. Media yang cocok pada keberhasilan kultur jaringan selain komposisi zat pengatur tumbuh yang diberikan juga ditentukan kandungan gula sebagai karbohidrat. Gula dalam hal ini berupa sukrosa pada kultur *in vitro* berperan sebagai karbohidrat. Gula secara umum ditambahkan dalam media sebanyak 1-3%. Media yang kekurangan gula akan menghasilkan plantlet dengan persentase dan jumlah akar yang sedikit. Huimei *et al.* (10) melaporkan bahwa penambahan gula sampai 3% meningkatkan persentase dan jumlah akar. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi BAP dan NAA dalam menginduksi tunas dan perakaran jeruk siam asal Kampar secara *in vitro*.

2 METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan yaitu : *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC) merk LabTech, autoklaf merk All Americana tipe 25X-2, *oven* merk PSelecta tipe 2001244, timbangan analitik merk Kern tipe ABJ 120-4M, *hot plate* merk PSelecta tipe 048432, rak kultur, erlenmeyer, cawan petri, gelas ukur, pipet tetes, botol kultur, pinset, *scalpel*, lampu bunsen, botol *sprayer*, aluminium foil, kertas pH, kertas label, kertas saring, karet gelang, plastik, tisu gulung. Sedangkan bahan yang digunakan sebagai eksplan adalah biji jeruk siam yang berasal dari kebun jeruk di desa Belimbing 2, kecamatan Kuok, kabupaten Kampar, media MS (*Murashige and Skoog*) merk Phyto Technology Laboratories, agar-agar merk Fisons sebagai pematat, sukrosa, zat pengatur tumbuh BAP dan NAA, natrium hipoklorit (bayclin), alkohol 70%, akuades, detergen, spiritus, NaOH 1 N, HCl 1 N, betadine, fungisida merk Dithane M-45, bakterisida merk Plantomycin. *scalpel*, pinset. Semua peralatan disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰ C dan tekanan 15 psi selama ± 15 menit. Laminar yang akan digunakan sebagai tempat penanaman harus dalam keadaan steril. Sterilisasi dilakukan dengan melakukan penyemprotan dengan alkohol 70% sebelum dan sesudah kegiatan penanaman.

2.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Untuk pembentukan tunas menggunakan kotiledon dan zat pengatur tumbuh BAP (0 mg/l, 1mg/l, 3 mg/l dan 5 mg/l), masing-masing dengan 12 ulangan sehingga diperoleh 48 unit percobaan.



Pembentukan perakaran yang digunakan eksplan tunas yang dihasilkan dari konsentrasi BAP yang terbaik dalam pembentukan tunas dengan menggunakan media Murashige Skoog (MS).

2.2 Induksi tunas *in vitro* dan kondisi kultur

Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah biji dari buah jeruk yang sudah matang dan siap panen. Biji selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan direndam dengan larutan detergen selama 2 menit, biji dibilas dengan akuades steril. Kemudian direndam dalam 2 g/l fungisida selama 5 menit, bilas dengan akuades steril kemudian dilanjutkan dengan perendaman dengan 2 g/l bakterisida selama 5 menit dan dibilas dengan akuades steril. Selanjutnya sterilisasi eksplan dilakukan dalam laminar. Biji direndam dengan larutan natrium hipoklorit (bayclin) 20% selama 20 menit kemudian biji dicuci dengan akuades steril. Biji direndam kembali dengan larutan alkohol 70% selama 10 menit dan dibilas kembali dengan akuades steril. Eksplan diletakkan ke dalam cawan petri berisi sedikit akuades yang telah ditetesi 2 tetes betadine. Kulit biji bagian luar dilepaskan, embrio zigotik diambil dan kedua bagian kotiledon digunakan sebagai eksplan dimana kedua bagian kotiledon diletakkan dalam 1 botol. Pengamatan dilakukan pada akhir penelitian (42 HST) dengan menghitung waktu muncul tunas (HST), persentase tunas (%) dan tinggi tunas (cm). Eksplan yang hidup ditandai dengan warna yang masih hijau dan tidak mengalami kontaminasi.

2.3. Induksi Perakaran dari Tunas *In vitro*

Untuk induk perakaran, tunas *in vitro* berumur 42 hari dipindahkan ke cawan petri yang diberi kertas saring. Tunas dipotong sepanjang 2 cm dari ujung tunas kemudian dimasukkan pada botol kultur yang berisi media yang sudah diberi perlakuan dengan posisi berdiri setiap botol terdiri dari 1 tunas *in vitro*. Botol-botol kultur diletakkan kembali pada rak kultur. Kultur diinkubasi pada ruangan yang bersuhu 23-25 °C dengan penyinaran lampu. Pengamatan dilakukan selama 1 bulan dengan mengamati parameter waktu muncul akar (HST), persentase perakaran (%) dan panjang akar (cm).

2.4. Analisis Data

Data yang diperoleh pada induksi tunas dan perakaran biji jeruk asal Kampar dianalisis dengan ANOVA (analysis of variance). Jika hasil menunjukkan pengaruh nyata maka diuji lanjut dengan uji DMRT (Duncan's Multiple Range Test) pada taraf 5%.



3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh pemberian BAP terhadap persentase eksplan yang hidup dan potensi morfogenesis eksplan kotiledon dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase eksplan yang hidup, waktu terbentuk tunas, jumlah tunas dan tinggi tunas dari eksplan kotiledon jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour.) ‘Kampar’ dengan pemberian BAP (*Benzil Amino Purine*) secara *in vitro*

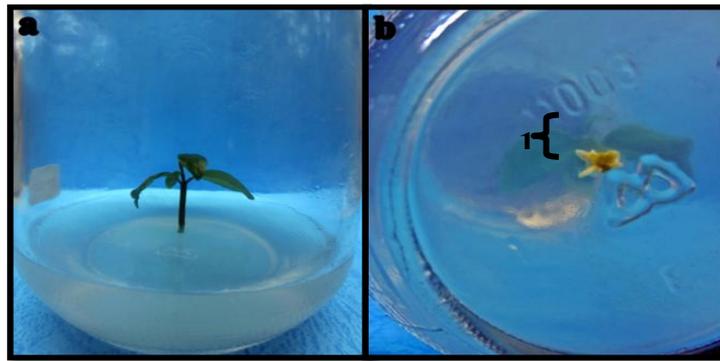
Konsentrasi BAP (mg/l)	Eksplan hidup (%)	Waktu terbentuk tunas (HST)	Tunas (%)	Jumlah tunas (buah)	Tinggi tunas(cm)
0	100	10	91,67 ^c	1,5	3,10 ^c
1	100	14	75 ^b	1,5	1,55 ^b
3	100	12	58,33 ^{ab}	1,33	1,00 ^{ab}
5	100	14	33,33 ^a	0,75	0,42 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf kecil yang berbeda dan terletak pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada uji lanjut DMRT taraf 5%.

Tabel 1 menunjukkan bahwa berdasarkan analisis ragam pemberian BAP tidak memberi pengaruh yang nyata terhadap persentase eksplan yang hidup, waktu terbentuknya tunas dan jumlah tunas. Pada Tabel 1 terlihat memberi pengaruh nyata hanya pada persentase tunas yang terbentuk dan tinggi tunas. Persentase eksplan hidup pada keseluruhan perlakuan sama yaitu 100%. Waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan tunas ditentukan dengan menghitung hari pertama tunas muncul. Pada penelitian ini, waktu yang dibutuhkan untuk menginduksi tunas pada eksplan kotiledon lebih cepat pada perlakuan tanpa BAP yaitu 10 HST. Persentase pembentukan tunas dari eksplan kotiledon dengan pemberian BAP cenderung turun. Persentase pembentukan tunas tertinggi didapatkan pada perlakuan tanpa pemberian BAP mencapai 91,67%, semakin menurun pada konsentrasi BAP yang lebih tinggi. Ini mungkin disebabkan kandungan sitokinin endogen dalam kotiledon masih mencukupi untuk pembentukan tunas. Evans *et al* (11) menyatakan zat pengatur tumbuh sitokinin dapat menghambat terjadinya perpanjangan sel sehingga eksplan yang ditanam tidak bertambah tinggi. Menurut Salisbury dan Ross (12) batang yang sedang memanjang tidak memerlukan sitokinin dari luar karena kandungan sitokinin dalam jaringan telah mencukupi untuk perpanjangan sel.

Induksi pembentukan akar secara *in vitro* jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) ‘Kampar’ diperoleh dari tunas *in vitro* berumur 42 hari. Tunas *in vitro* yang digunakan memiliki jumlah daun 2 atau lebih dan daun berwarna hijau. Tunas *in vitro* dikultur pada media MS dengan pemberian zat pengatur tumbuh NAA dari jenis auksin dengan beberapa konsentrasi (Kontrol; 0,5;1; 1,5; 2 mg/L NAA) dengan 12 ulangan masing-masing perlakuan. Pertumbuhan akar mulai terlihat setelah dua minggu setelah tanam (MST). Akar muncul dari bekas pemotongan pada pangkal tunas. Awalnya pangkal tunas akan berubah warna agak kekuning-kuningan, kemudian pangkal tunas akan mulai membengkak dan muncul akar berwarna putih (Gambar 1).





Gambar 1. a. Tunas *in vitro* baru ditanam b. akar mulai terbentuk 11 hst (bawah botol)
1. akar

Berdasarkan uji ANOVA waktu pembentukan akar, persentase pembentukan akar dan jumlah akar jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) 'Kampar' ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Waktu Muncul Akar, Persentase Pembentukan Akar dan Jumlah Akar jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) 'Kampar'

Jenis Media	Konsentrasi NAA (mg/L)				
	Kontrol	0,5 mg/L	1 mg/L	1,5 mg/L	2 mg/L
Waktu Muncul akar	12,6	11,3	11,6	11	12
Akar (%)	90 ^a	60 ^a	90 ^a	20 ^b	30 ^b
Jumlah akar	1,3 ^b	2,0 ^b	6,3 ^a	1,8 ^b	1,5 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf kecil yang berbeda dan terletak pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada uji lanjut DMRT taraf 5%.

Pada Tabel 2 pada penelitian ini waktu muncul akar jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) 'Kampar' berkisar antara 11-12,6 HST. Menurut Razdan (4), waktu muncul akar tanaman secara *in vitro* bervariasi antara 10-15 hari tergantung dari jenis spesies tanaman. Spesies jeruk siam yang waktu muncul akar antara 11 HST tergolong spesies yang cepat berakar. Namun beberapa spesies, akar terbentuk dalam waktu yang lama. Media merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi persentase pembentukan akar. Tunas *in vitro* yang dikultur pada media multipikasi maupun induksi dengan menggunakan media MS penuh pada media perakaran dapat meningkatkan keberhasilan perakaran (4). Penggunaan zat pengatur tumbuh dalam menginduksi perakaran mempunyai peranan penting. Pemberian auksin (NAA) terhadap waktu munculnya akar tidak terlihat berpengaruh nyata sedangkan pemberian auksin (NAA) pada beberapa konsentrasi untuk menginduksi perakaran jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) 'Kampar' berpengaruh signifikan terhadap persentase perakaran dan jumlah akar. Berdasarkan uji ANOVA persentase terbentuknya akar pada perlakuan Kontrol (0 mg/L NAA), 0,5 dan 1 mg/L NAA berbeda nyata terhadap perlakuan 1,5 dan 2 mg/L NAA. Persentase pembentukan akar terbaik terlihat pada kontrol (0 mg/L NAA)

sebesar 90% diikuti dengan 1 mg/L NAA dan 0,5 mg/L NAA, yaitu masing-masing 90% dan 60%. Jumlah akar tertinggi dihasilkan pada perlakuan dengan pemberian NAA 1,5 mg/L. Hal ini berarti pembentukan akar yang terbaik adalah perlakuan dengan pemberian 1,5 mg/L NAA dibandingkan dengan penambahan NAA dengan konsentrasi yang lain.

4. KESIMPULAN

1. Induksi tunas terbaik diperoleh dari MS tanpa BAP dengan persentase dan jumlah tunas sebanyak 91,67% dan 1,5 tunas.
2. Kombinasi medium MS dengan 1 mg/L NAA merupakan perlakuan terbaik dan optimal dalam menginduksi perakaran jeruk siam asal Kampar dengan persentase perakaran yang terbentuk dan jumlah akar tertinggi, berturut-turut sebesar 90% dan 6,3 akar.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh dana berbasis laboratorium tahun 2012 dari Lembaga Penelitian Universitas Riau.

6. PUSTAKA

- [1] Balitbang. 2011. Jendela Informasi Riau. <http://www.riauonline.com/berita/print/balitbang-sukses-teliti-jeruk-carizzo-dan-siam-kampar.html>. [Diakses tanggal 09 Nopember 2013].
- [2] Smith RH. 2000. *Plant Tissue Culture Techniques and Experiments Second Edition*. USA: Academic Press
- [3] Zulkarnain, H. 2009. *Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya In vitro Tanaman*. Jambi. Bumi Aksara.
- [4] Razdan, M.K. 2003. *Introduction Plant Tissue Second Edition*. USA. Science Publisher Inc
- [5] Hendaryono DPS dan A Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta. Kanisius
- [6] Chanana YR, Gill MIS. 2008. *Propagation and Nursery Management*. Ludhiana. Punjab Agricultural University.
- [7] Jajoo A. 2010. *In vitro Propagation of Citrus limonia Osbeck Through Nucellar Embryo Culture*. *Current Research Journal of Biological Sciences* 2(1):6-8
- [8] Ramkrishna N, Khawate, Sanjay K, Singh. 2005. *In vitro adventitive embryony in Citrus: a technique for Citrus germplasm exchange*. *Current Science* 88(8): 1309-1311.



- [9] George E.F., Hall M., Jan D.K. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture. Edition Third*. Publisher by Sprinzer. Netherlands.
- [10] Huimei W., Yuangang Z., Hongmei L. 2007. Efficient Rooting and Root Development after Transfer of Regenerated Plantlets of *Camptotheca acuminata*. *Eurasian Journal of Forest Research* 10(2): 179-184.
- [11] Evans D.E., Coleman J., Kearns A. 2003. *Plant Cell Culture*. Bios Scientific Publisher Tailor & Francis Group. London and New York.
- [12] Salisbury FB dan CW Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuha* . Bandung. ITB.