

Propagasi Mikro dan Sambung Mikro Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*) Garut Hasil Mutagenesis *In Vitro* dengan Batang Bawah Japansche Citroen

Micropropagation and Micrografting of Mandarin var. Garut (Citrus reticulata) Derived from In Vitro Mutagenesis with Japansche Citroen as rootstock

I Made Arisudana Putra¹, Agus Purwito^{1*}, dan Mia Kosmiatin¹

Diterima 17 April 2015 / Diterima 26 Juni 2015

ABSTRACT

This study was aimed at obtaining the best concentration of kinetin for multiplication of Mandarin var. Garut as the derived from in vitro mutation, determining period of immersion of Japansche citroen seed in GA₃ 10 mg L⁻¹ solution and getting the best sucrose concentration in agar for grafted plant. The experiment was conducted at the in vitro Laboratory of Cell and Tissue Biology, BB Biogen, and Plant Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, Bogor Agricultural University from January to September 2014. A completely randomized design (CRD) was used in experiment with 1 treatment factor. The factor was kinetin concentration in multiplication medium (MS +MW Vitamin) consisting of three level of: (K₁) kinetin 1 mg L⁻¹, (K₂) kinetin 3 mg L⁻¹, dan (K₃) kinetin 5 mg L⁻¹. The factor of the second experiment was time length of JC seed immersion in GA₃ 10 mg L⁻¹ solution: (δ₁) 1 hour, (δ₂) 2 hours, dan (δ₃) 3 hours. The factor for third step is sucrose concentration in grafted plants medium which consisted of three levels: (G₁) 30 g L⁻¹ of sucrose, (G₂) 50 g L⁻¹ of sucrose, and (G₃) 70 g L⁻¹ of sucrose. The optimum concentration of kinetin for scion growth was 1 mg L⁻¹ and for multiplication was 5 mg L⁻¹. The best period for rootstock immersion in GA₃ solution was 3 hours. The best percentage of success in micrografting occurred at 70 g L⁻¹ sucrose containing medium.

Key words: gibberellin, kinetin, multiplication, sucrose

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mendapatkan konsentrasi penambahan kinetin terbaik pada multiplikasi jeruk keprok garut hasil induksi mutasi, mendapatkan perlakuan perendaman GA₃ terbaik untuk perkecambahan batang bawah *Japansche Citroen* (JC), dan mendapatkan konsentrasi gula terbaik untuk menumbuhkan tanaman hasil sambung mikro. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium *in vitro* kelompok peneliti Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Bioteknologi dan Genetika serta Laboratorium Kultur Jaringan, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor pada bulan Januari hingga September 2014. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) 1 faktor untuk ke tiga tahap penelitian. Faktor pada percobaan multiplikasi adalah konsentrasi kinetin pada media multiplikasi (MS+Vitamin MW) yang terdiri atas 3 taraf: K₁) kinetin 1 g L⁻¹, (K₂) kinetin 3 g L⁻¹, dan (K₃) kinetin 5 g L⁻¹. Faktor untuk percobaan ke dua adalah lama perendaman biji JC pada larutan GA₃ 10 mg L⁻¹ yang terdiri atas 3 taraf yakni (δ₁) 1 jam, (δ₂) 2 jam, dan (δ₃) 3 jam. Faktor pada percobaan ke tiga adalah konsentrasi gula pada media tanaman hasil sambung mikro dengan 3 taraf: (G₁) konsentrasi gula 30 g L⁻¹, (G₂) konsentrasi gula 50 g L⁻¹, dan (G₃) konsentrasi gula 70 g L⁻¹. Konsentrasi kinetin optimal untuk pertumbuhan batang atas adalah 1 mg L⁻¹ sedangkan untuk kemunculan tunas baru adalah 5 mg L⁻¹. Lama perendaman pada larutan GA₃ 10 mg L⁻¹ yang terbaik untuk memacu perkecambahan biji dan pemanjangan kecambah adalah 3 jam. Persentase keberhasilan sambung mikro tertinggi diperoleh media dengan konsentrasi gula 70 g L⁻¹.

Kata kunci: giberelin, kinetin, multiplikasi, gula

¹Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia
Telp.&Faks. 62-251-8629353. *Email korespondensi: apurwito@yahoo.com

PENDAHULUAN

Jeruk merupakan sumber vitamin C dalam kehidupan manusia. Menurut FAO, satu jeruk memiliki kandungan vitamin C sebesar 70 mg (konsumsi rekomendasi 30-100 mg/hari) sehingga satu orang cukup memakan satu jeruk setiap harinya untuk memenuhi kebutuhan vitamin C-nya. Hal ini membuat konsumsi jeruk di Indonesia cukup tinggi terbukti dari kebutuhan impor jeruk di Indonesia yang meningkat tajam dari 100 655 ton tahun 2006 menjadi 204 148 ton pada tahun 2010 (Badan Pusat Statistika, 2010).

Perbanyak tanaman jeruk dapat dilakukan secara generatif yakni dengan biji atau dengan vegetatif yakni dengan cangkok maupun sambung. Perbanyak secara generatif jarang dilakukan karena fase juvenil pada jeruk yang lama (antara 6-20 tahun) (Pena *et al.*, 2001) dan sifat buah yang dihasilkan beragam dan seringkali tidak unggul walaupun berasal dari induk yang unggul. Lamanya fase juvenil dari jeruk memperlambat proses pembuahan jeruk baik secara konvensional maupun nonkonvensional. Pemuliaan mutasi secara *in vitro* merupakan salah satu teknik non konvensional yang dapat dipilih dalam pemuliaan jeruk. Kendala yang dihadapi dalam teknik ini adalah lambatnya regenerasi tunas putatif mutan sehingga perlu dilakukan upaya untuk mempercepat pertumbuhan tunas tersebut. Penelitian Susanto *et al.* (2010) mengenai pertumbuhan vegetatif dan generatif batang atas jeruk Pamelon menunjukkan bahwa beberapa 'interstok' berpotensi mendorong pertumbuhan vegetatif tanaman.

Penyambungan mengombinasikan batang bawah dan batang atas dengan keunggulan masing-masing spesies. Batang bawah yang dipakai umumnya memiliki perakaran yang kuat dan tahan terhadap penyakit perakaran tertentu sedangkan batang atas yang dipakai umumnya memiliki produktivitas yang tinggi (Tambing, 2008). Penyambungan pada tanaman jeruk dapat dilakukan secara konvensional maupun secara *in vitro* Sambung konvensional memiliki masalah terutama dalam ketersediaan batang atas dan batang bawah yang lama karena harus menunggu batang atas dan bawah tumbuh sesuai dengan kriteria sambung (Khan, 2007), permasalahan dalam penanganan penyakit (Roistacher, 2004), dan inkompatibilitas antara

batang atas dan batang bawah (Ji-Zhong *et al.*, 2002).

Sambung mikro adalah teknik yang sangat berpotensi karena menggabungkan keuntungan mikro propagasi dengan pertambahan produksi hasil penyambungan batang bawah dan batang atas (Gebhardt dan Goldbach, 1988). Teknik ini bebas dari penyakit karena dilakukan pada kondisi *in vitro* dan jaringan meristem relatif bebas virus dan patogen (Mudge *et al.*, 2009). Tanaman disambung pada umur yang relatif sangat muda sehingga inkompatibilitas dapat segera terlihat (Obeidy dan Smith, 1991).

Perbanyak secara *in vitro* memerlukan zat pengatur tumbuh (ZPT) untuk mengoptimalkan pertumbuhan eksplan. Purnamaningsih dan Lestari (1998) menyatakan bahwa untuk mendapatkan hasil yang optimum maka penggunaan media dasar dan zat pengatur tumbuh yang tepat merupakan faktor yang penting. Oleh karena itu perlu dilakukan studi perbanyak batang atas, perkecambahan batang bawah, dan optimasi tanaman hasil sambung mikro. Penelitian ini bertujuan mendapatkan konsentrasi penambahan kinetin terbaik pada media multiplikasi jeruk keprok garut hasil induksi mutasi, mendapatkan lama perendaman dalam GA₃ terbaik untuk perkecambahan batang bawah Japansche Citroen (JC), dan mendapatkan konsentrasi gula terbaik untuk menumbuhkan tanaman hasil sambung mikro.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium *in vitro* kelompok peneliti Biologi Sel dan Jaringan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetika Pertanian serta Laboratorium Kultur Jaringan, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor mulai bulan Januari 2014 hingga September 2014.

Bahan yang digunakan sebagai eksplan dalam penelitian ini adalah tunas hasil induksi mutasi *Ethyl Methyl Sulfonate* (EMS) pada kalus jeruk keprok garut yang akan diperbanyak dan disambung mikro dengan *Japansche Citroen* (JC) sebagai batang bawah. Bahan kimia yang digunakan adalah media dasar MS, formulasi vitamin Morel and

Wetmore (MW), *Benzil Adenine* (BA), *Indol Acetic Acid* (IAA), *Giberelin Acid* (GA₃), *Kinetin*, bahan sterilisasi (alkohol 96%, klorox 30%, dan klorox 10%), *Malt Extract*, serta gula pasir.

Penelitian ini terdiri atas 3 Percobaan yaitu (1) Multiplikasi jeruk keprok kandidat mutan pada media dengan penambahan kinetin, (2) Perkecambahan biji *Japansche Citroen* (JC) dengan perlakuan GA₃, (3) Optimasi pertumbuhan tanaman hasil sambung mikro jeruk keprok kandidat mutan dengan JC.

Multiplikasi Jeruk Keprok Kandidat Mutan pada Media dengan Penambahan Kinetin

Tunas *in vitro* hasil induksi mutasi dipotong kira-kira 2 buku, dan disubkultur dalam media perlakuan multiplikasi yaitu MS+Vitamin MW+Kinetin 1 mg L⁻¹; media MS+Vitamin MW+Kinetin 3 mg L⁻¹; dan media MS+Vitamin MW+Kinetin 5 mg L⁻¹. Pengamatan dilakukan tiap minggu terhadap tinggi tanaman, jumlah buku, dan jumlah tunas baru. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan konsentrasi kinetin sebagai faktornya. Terdapat 3 perlakuan dengan 12 ulangan sehingga terdapat 36 satuan percobaan. Tiap satuan percobaan terdiri atas 3 eksplan.

Perkecambahan Biji *Japansche Citroen* (JC) dengan Perlakuan GA₃

Buah JC direndam dalam larutan alkohol 96% selama 1 jam dan dibilas dengan akuades steril. Biji kemudian diambil dari buah dengan *pinset* dan *scalpel* dalam *laminar air flow cabinet*. Biji diperlakukan dalam larutan GA₃ 10 mg L⁻¹ yang telah disterilkan

dengan filter *milipore* selama 1, 2, dan 3 jam. Pengamatan dilakukan tiap minggu terhadap persentase tumbuh dan tinggi tanaman. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan lama perendaman GA₃ sebagai faktornya. Terdapat 3 perlakuan dengan masing-masing 9 ulangan sehingga terdapat 27 satuan percobaan. Tiap satuan percobaan terdiri atas 5 eksplan.

Optimasi Pertumbuhan Tanaman Hasil Sambung Mikro Jeruk Keprok Kandidat Mutan dengan JC

Tunas batang atas hasil multiplikasi dipotong pucuknya kira-kira sepanjang 2 buku sedangkan batang bawah hasil perkecambahan JC dibuang bagian tunas pucuknya menyisakan bagian hipokotil sepanjang ±3 cm. Bagian pangkal batang atas dipotong membentuk seperti huruf V sedangkan pada batang bawah disayat bagian tengah sepanjang kira-kira 0.3 cm. Batang atas kemudian disambungkan/disisipkan dengan batang bawah menggunakan *pinset*. Tanaman hasil sambung ini kemudian ditanam dalam media MS0 yang ditambahkan gulanya sesuai perlakuan yakni 30 g L⁻¹, 50 g L⁻¹, dan 70 g L⁻¹. Pengamatan dilakukan setiap minggu sampai minggu keempat terhadap persentase keberhasilan sambung. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan konsentrasi gula pasir sebagai faktornya. Terdapat 3 perlakuan dengan masing-masing 7 ulangan sehingga terdapat 21 satuan percobaan. Tiap satuan percobaan terdiri atas 2 eksplan. Tahapan penyambungan ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema penyambungan mikro antara tunas putatif mutan jeruk keprok garut (batang atas) dengan jeruk JC (batang bawah)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Multiplikasi Jeruk Keprok Garut Hasil Mutasi

Multiplikasi merupakan tahap penting dalam propagasi tanaman. Hal ini bertujuan untuk memperbanyak tanaman yang memiliki sifat yang sama dengan tanaman induk. Multiplikasi dilakukan dengan menginduksi tunas pucuk baru dari tunas samping dan tunas adventif. Pada percobaan ini tunas putatif mutan jeruk keprok dimultiplikasi pada media dasar MS + Vitamin MW yang dikombinasi dengan kinetin pada konsentrasi 1 mg L⁻¹, 3 mg L⁻¹, dan 5 mg L⁻¹. Hasil pengamatan pertumbuhan tunas putatif mutan menunjukkan pertumbuhan yang relatif lambat (Tabel 1). Tunas yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan kinetin konsentrasi 1 mg L⁻¹ menunjukkan rata-rata pertambahan tinggi dan jumlah buku yang paling besar dibandingkan dengan kedua perlakuan lain. Rata-rata pertambahan tinggi tanaman pada media kinetin 1 mg L⁻¹ adalah 0.39 cm dengan pertambahan buku 1.50.

Media dengan penambahan kinetin 5 mg L⁻¹ menunjukkan jumlah tunas terbanyak yakni 1.45 tunas baru per eksplan, tetapi pertambahan tingginya tidak signifikan yakni hanya 0.23 cm (tabel 2). Sambung mikro memerlukan batang atas dari tunas pucuk

sehingga jumlah tunas baru adalah yang terpenting, sehingga tunas yang belum membentuk tunas baru disubkultur pada media dengan penambahan kinetin 5 mg L⁻¹.

Peningkatan konsentrasi kinetin menghambat pertumbuhan batang atas. Tinggi eksplan pada perlakuan kinetin konsentrasi 3 mg L⁻¹ berbeda nyata dibandingkan dengan konsentrasi 3 mg L⁻¹ dan 5 mg L⁻¹ pada minggu ke tiga dan ke lima. Pertumbuhan eksplan pada kinetin konsentrasi 1 mg L⁻¹ naik pada minggu ke delapan sehingga pertumbuhannya lebih tinggi dibanding eksplan pada kinetin konsentrasi 5 mg L⁻¹. Media dengan penambahan kinetin konsentrasi 3 mg L⁻¹ menginduksi pertumbuhan secara cepat pada awal, tetapi pertumbuhannya melambat setelah minggu ke lima. Hal ini berbeda dengan media dengan konsentrasi kinetin 1 mg L⁻¹ yang menginduksi pertumbuhan lambat pada awal, tetapi nilai pertumbuhan eksplan semakin tinggi tiap minggunya. Ekplan pada media dengan konsentrasi kinetin 5 mg L⁻¹ memiliki nilai pertumbuhan yang paling rendah dibandingkan dengan kedua perlakuan lain. Hal ini diduga karena konsentrasi kinetin yang berlebihan cenderung menghambat pertambahan tinggi tanaman. Kinetin dikenal sebagai faktor dalam pembelahan sel sehingga jumlah yang tepat dapat menginduksi pembelahan sel sehingga dapat memicu pertambahan tinggi tanaman.

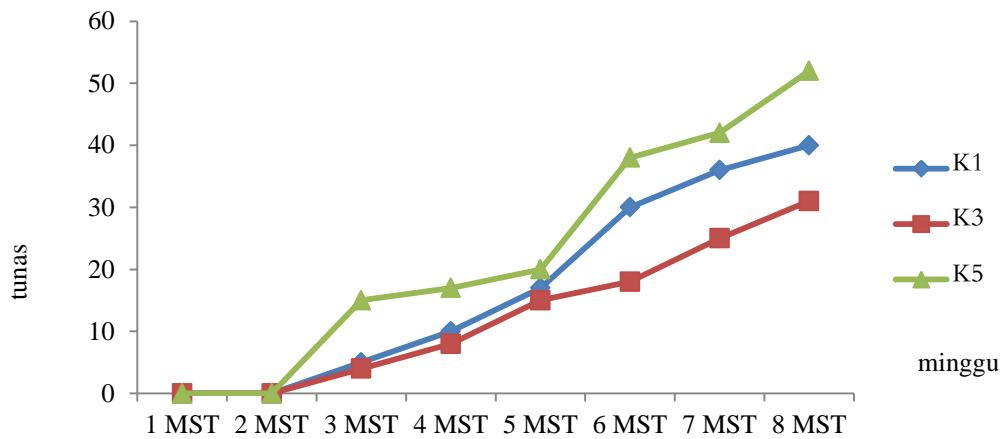
Tabel 1. Pertumbuhan tunas jeruk keprok putatif mutan pada media multiplikasi tunas dengan penambahan kinetin 8 minggu setelah dikulturkan

| Media | Jumlah tunas | Tinggi (cm) | Jumlah buku |
|------------------------------|--------------|-------------|-------------|
| Kinetin 1 mg L ⁻¹ | 1.1 ±0.6 | 0.4 ±0.2 | 1.5 ±1.1 |
| Kinetin 3 mg L ⁻¹ | 0.8 ±0.7 | 0.4 ±0.2 | 0.8 ±0.7 |
| Kinetin 5 mg L ⁻¹ | 1.5 ±1.3 | 0.2 ±0.1 | 1.1 ±0.8 |

Tabel 2. Rata-rata pertambahan tinggi tunas jeruk keprok putatif mutan

| Media | Umur (MST) | | |
|------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 3 | 5 | 8 |
| | cm..... | | |
| Kinetin 1 mg L ⁻¹ | 1.09ab | 1.26ab | 1.56a |
| Kinetin 3 mg L ⁻¹ | 1.31a | 1.43a | 1.53ab |
| Kinetin 5 mg L ⁻¹ | 1.05b | 1.16b | 1.35b |
| Uji F | * | ** | * |
| KK | 22.26 ^T | 16.59 ^T | 14.45 ^T |

Keterangan: ^aAngka pada kolom yang sama, diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji selang berganda Duncan), KK=Koefisien Keragaman, ^(T)=hasil transformasi log (100 * x) MST=Minggu Setelah Tanam

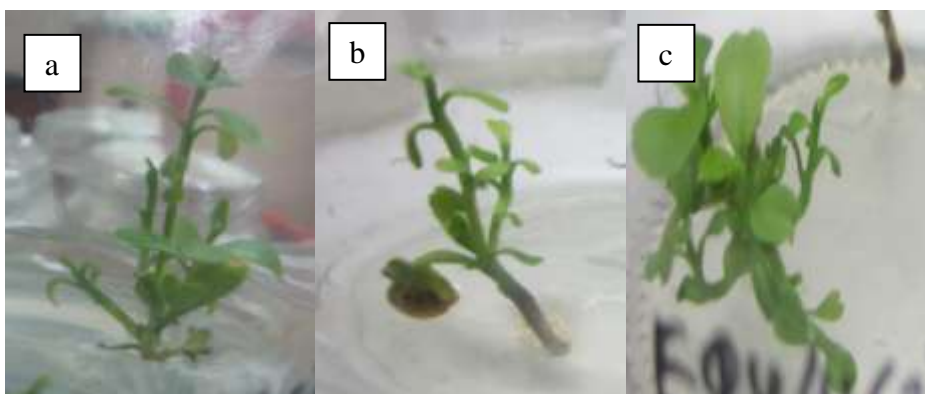


Gambar 2. Jumlah tunas jeruk putatif mutan per minggu pada media multiplikasi tunas. K1= Kinetin 1 mg L⁻¹, K3= Kinetin 3 mg L⁻¹, K5= Kinetin 5 mg L⁻¹.

Kinetin berperan dalam menginduksi tunas baru dan telah terbukti dalam menginduksi tunas baru pada ubi kayu (Khumaida *et al.*, 2011), Purwoceng (Darwati dan Roostika, 2006), dan Seruni. Lestari (2011) menyatakan bahwa penggunaan zat pengatur tumbuh sitokinin (BA atau kinetin) dapat memacu pertumbuhan tunas baru. Pada tunas putatif mutan jeruk keprok, tunas baru mulai terbentuk pada minggu ketiga. Gambar 2 menunjukkan kinetin 5 mg L⁻¹ menginduksi tunas baru paling banyak setiap minggunya dibandingkan dengan kinetin 1 mg L⁻¹ dan 3 mg L⁻¹. Kinetin 5 mg L⁻¹ menginduksi pembentukan 53 tunas baru sedangkan kinetin 1 mg L⁻¹ dan 3 mg L⁻¹ hanya menghasilkan 38 dan 30 tunas baru pada minggu ke 8 setelah kultur. Hesar *et al.* (2011) menyatakan bahwa konsentrasi kinetin berbanding lurus dengan

pertambahan jumlah tunas baru, jadi dengan peningkatan konsentrasi kinetin dapat memacu pertumbuhan tunas.

Multiplikasi dapat dilakukan dengan memperbanyak tunas samping sehingga jumlah buku mempengaruhi berapa banyak tanaman bisa diperbanyak. Eksplan pada media dengan konsentrasi kinetin 1 mg L⁻¹ menghasilkan buku terbanyak dibandingkan dengan kinetin 3 mg L⁻¹ dan 5 mg L⁻¹. Rata-rata satu eksplan yang dikulturkan pada media dengan penambahan kinetin 1 mg L⁻¹ menghasilkan 1.5 buku per tunas. Hasil ini lebih baik dibanding dengan kinetin 3 mg L⁻¹ dan 5 mg L⁻¹ yang rata-rata hanya menghasilkan 0.8 dan 1.1 buku per eksplan dalam periode 8 minggu pengkulturkan. Ilustrasi multiplikasi tunas disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Multiplikasi jeruk keprok garut putatif mutan pada media dengan penambahan kinetin 1 mg L⁻¹ (a), 3 mg L⁻¹ (b), dan 5 mg L⁻¹ (c)

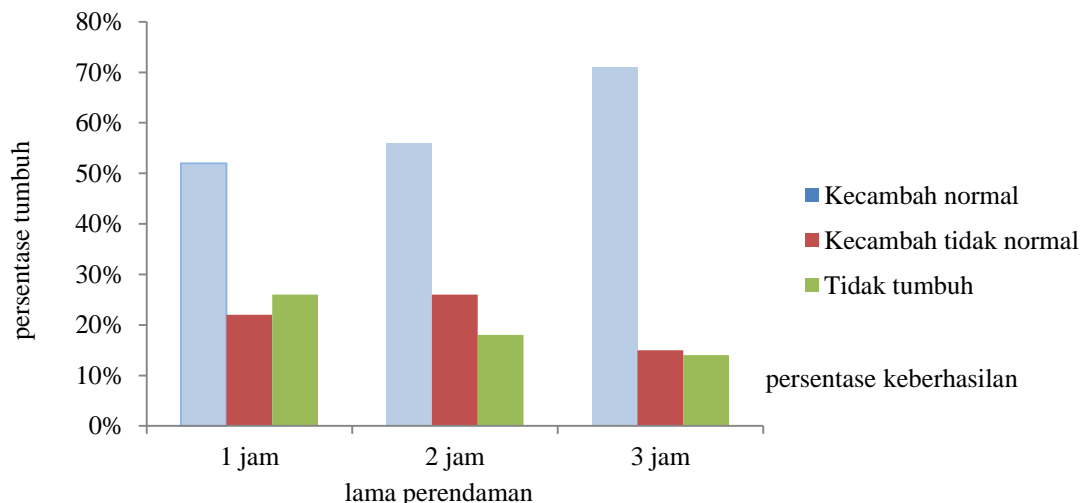
Perkecambahan Biji *Japansche Citroen* (JC)

Benih JC yang dipakai diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika yang masih sangat muda yakni berumur 5 bulan setelah antesis dengan daya berkecambah yang kurang dari 50%, sehingga diperlukan perlakuan untuk meningkatkan daya berkecambahnya. Hasil perlakuan menunjukkan bahwa perendaman dalam larutan GA₃ menunjukkan pengaruh positif dengan meningkatnya persentase perkecambahan. Pada Gambar 4 terlihat bahwa semakin lama perendaman akan meningkatkan persentase perkecambahan benih JC. Daya berkecambah meningkat menjadi 52% pada perendaman 1 jam, 56% pada perendaman 2 jam, dan 71% pada perendaman 3 jam. Hal ini menunjukkan bahwa sampai 3 jam setelah perlakuan dalam larutan, GA₃ baru bisa menembus testa. Testa jeruk dapat disayat untuk memudahkan masuknya larutan ke dalam benih, tetapi menyayat jeruk yang baru saja dikeluarkan dari dalam buah sangat licin sehingga sulit membuat luka yang tipis. Pelukaan terlalu dalam juga dapat mengenai embrio dalam benih sehingga benih tidak dapat berkecambah.

GA₃ berperan penting dalam perkecambahan benih. Giberelin pada benih berukuran kecil/muda merangsang perkecambahan dengan menghilangkan kekangan mekanik yang berasal dari jaringan di sekitar embrio dan mengendurkan dinding sel (Ogawa *et al.*, 2003). Giberelin endogen pada epitelium

merangsang perkecambahan dengan menginduksi α -amilase sehingga cadangan makanan cepat terserap benih (Kaneko *et al.*, 2002). Perendaman benih dalam larutan giberelin telah diketahui dapat memecahkan dormansi pada benih padi (Vieira *et al.*, 2002). Larutan GA₃ hasil perendaman dapat kembali dipakai dengan mensterilkan larutan dengan filter *milipore* sehingga lebih ekonomis dibandingkan penambahan GA₃ pada media, namun perlu diteliti lebih lanjut tentang aktifitas GA₃ yang dipakai berulang.

GA₃ berpengaruh terhadap pemanjangan kecambah. Eksplan pada perendaman GA₃ selama 3 jam memiliki pertumbuhan yang terbaik dibandingkan pertumbuhan eksplan pada lama perendaman 1 dan 2 jam pada minggu ke enam. Pada minggu ke delapan pertumbuhan eksplan pada ketiga perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata meskipun hasil paling tinggi tetap pada eksplan dengan lama perendaman 3 jam (Gambar 5). Little dan McDonald (2003) menyatakan bahwa giberelin dapat menstimulasi aktivitas dari meristem subapikal dan meristem apikal sehingga semakin tua umur benih maka semakin sedikit jaringan meristem sehingga efek giberelin dalam memicu pertumbuhan semakin lama akan semakin berkurang. Hal ini juga diduga karena giberelin yang diberikan hanya pada pra tanam sehingga semakin lama giberelin yang tersisa pada jaringan akan berkurang.



Gambar 4. Persentase perkecambahan benih JC setelah diberi perlakuan GA₃ 10 mg L⁻¹, 8 minggu setelah dikulturkan.

Tabel 3. Rata-rata pertambahan tinggi kecambah JC hasil perlakuan dengan GA₃, 5 dan 8 minggu setelah pengkulturan

| Lama perendaman (jam) | Umur (MST) | |
|-----------------------|--------------|-------|
| | 6 | 8 |
| |cm..... | |
| 1 | 2.58a | 4.43 |
| 2 | 3.46a | 4.56 |
| 3 | 3.92b | 5.07 |
| Uji F | ** | tn |
| KK | 29.29 | 22.66 |

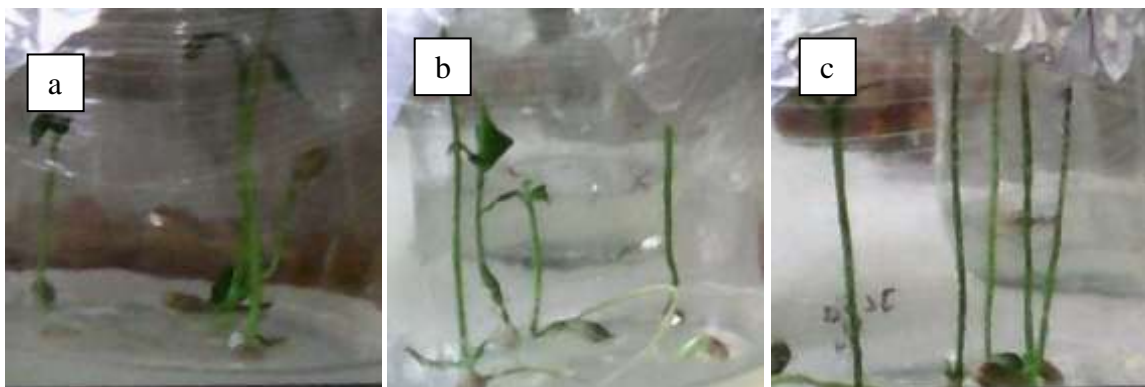
Keterangan: ^aAngka pada kolom yang sama, diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji selang berganda Duncan), KK=Koefisien Keragaman.

Sambung Mikro Batang Atas Jeruk Keprok Garut dengan Batang Bawah JC

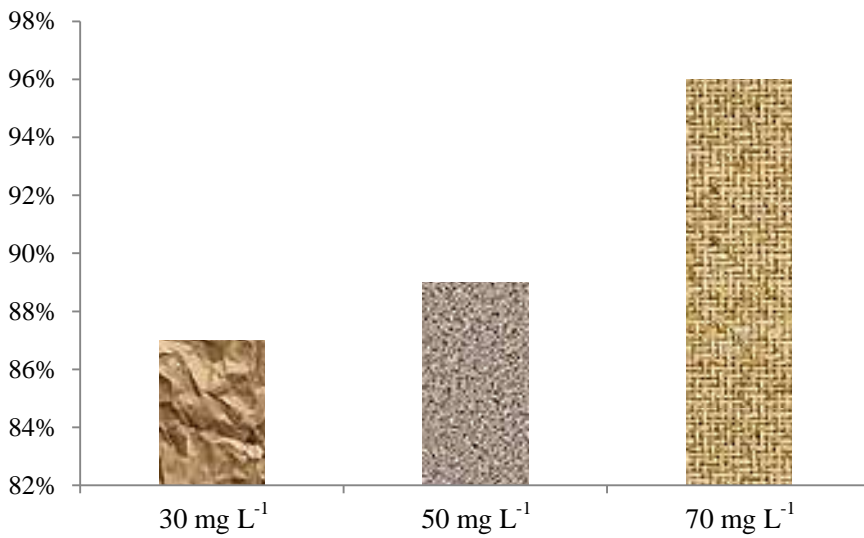
Gula merupakan salah satu faktor penting dalam keberhasilan kultur secara *in vitro*. Pierik (1987) menyatakan bahwa pertumbuhan dan perkembangan tanaman dalam *in vitro* berbanding lurus dengan konsentrasi gula sampai pada konsentrasi tertentu. Tanaman hasil sambung mikro memerlukan energi yang tinggi untuk menstimulasi pertumbuhan sel di antara jaringan yang baru disambung terutama jaringan transportasi antara kedua bagian tanaman tersebut. Hal ini menyebabkan pentingnya penambahan gula lebih tinggi dari biasanya untuk meningkatkan keberhasilan sambung mikro. Gambar 6 menunjukkan

bahwa tingkat keberhasilan sambung mikro tergolong tinggi (di atas 80%). Teknik sambung mikro memiliki tingkat keberhasilan yang lebih tinggi karena jaringan eksplan berupa jaringan meristem yang masih aktif membelah sehingga lebih cepat menstimulasi pemulihan di daerah hasil sambungan (Naz *et al.*, 2007). Semakin tinggi konsentrasi gula, semakin tinggi pula keberhasilan sambung mikro. Penambahan gula konsentrasi 70 mg L⁻¹ memiliki persentase keberhasilan 96% sedangkan pada gula konsentrasi 50 mg L⁻¹ persentase keberhasilan 89% dan pada gula konsentrasi 30 mg L⁻¹ hanya 87%. Gambar 7 dan Gambar 8 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi gula pada media, juga menginduksi pembentukan tunas samping batang bawah. Apabila terlalu banyak tunas samping dapat menghambat pertumbuhan tunas sambung.

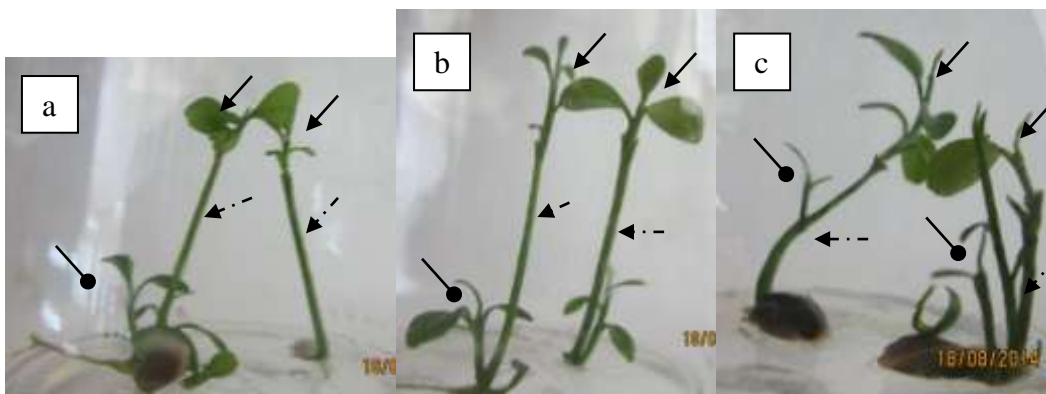
Hambatan dalam teknik sambung mikro adalah dominansi apikal yang diinduksi auksin terhenti pada batang bawah dikarenakan pucuk dipotong sehingga memicu pertumbuhan tunas samping batang bawah. Hal ini menimbulkan terhambatnya pertumbuhan batang atas. Pada penelitian ini pertumbuhan 1 sampai 2 tunas samping tidak menghambat pertumbuhan batang atas hasil sambungan (data tidak ditampilkan). Semakin tinggi konsentrasi gula juga semakin meningkatkan pertumbuhan batang atas setelah penyambungan. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan batang atas dan keberhasilan sambungan tidak terhambat sepenuhnya dengan kemunculan tunas samping.



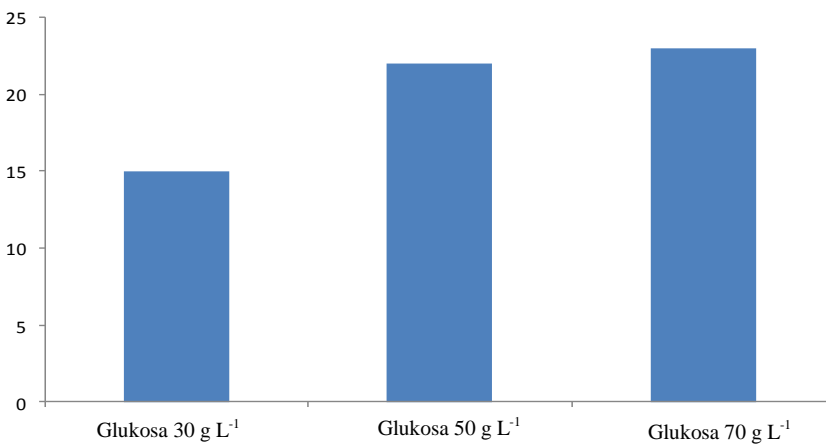
Gambar 5. Perkecambahan benih JC setelah diberi perlakuan GA₃ 10 mg L⁻¹, 8 minggu setelah dikulturkan; perendaman 1 jam (d), 2 jam (e), 3 jam (f)



Gambar 6. Persentase keberhasilan sambung mikro antara tunas jeruk keprok putatif mutan dengan batang bawah JC, 8 minggu setelah pengkulturan.



Gambar 7. Pertumbuhan sambung mikro antara tunas jeruk keprok putatif mutan dengan batang bawah JC pada media dengan peningkatan konsentrasi gula 30 g L⁻¹ (a), 50g L⁻¹ (b), dan 70 g L⁻¹ (c) ▲ = batang atas, ● = batang bawah, ▲ = tunas samping.



Gambar 8. Jumlah tunas samping batang bawah.

KESIMPULAN

Konsentrasi kinetin optimal untuk menginduksi tunas baru adalah 5 mg L⁻¹ sedangkan untuk penambahan buku kinetin 1 mg L⁻¹ lebih efektif. Lama perendaman GA₃ 10 mg L⁻¹ yang terbaik untuk meningkatkan perkecambahan benih dan pemanjangan kecambah adalah 3 jam. Persentase keberhasilan sambung mikro tertinggi pada sambung mikro yang dikulturkan pada media dengan konsentrasi gula 70 g L⁻¹.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistika. 2010. Import Buah-Buahan Indonesia 2006-2010. www.bps.go.id [4 Mei 2013]
- Darwati, I., I. Roostika. 2006. Status penelitian purwoceng (*Pimpinia alpina* Molk.) di Indonesia. Bul. Plasma Nutfah. 12(1):9-15.
- Gebhardt, K., H. Goldbach. 1988. Establishment, graft union characteristics and growth of *Prunus* micrografts. Phys. Plant. 72: 153-159.
- Hesar, A., K. Behzad, T. Alireza, B. Sahar. 2011. Effect of different concentrations of kinetin on regeneration of ten weeks (*Matthiola incana*). Plant Omics J. 4(5): 236-238.
- Ji-Zhong, X., S.B. Sheng, M. Bao-kun, G. Run-Fang, L. Xiao-Dong, Z. Xian-Bin. 2002. Studies on the POD and IOD activities of the dwarfing stocks and the Red Fuji apple grafted on corresponding interstocks. China. Agric. Sci. 1(5): 562-567.
- Kaneko, M., H. Itoh, M. Tanaka, M. Ashikari, M. Matsuoka. 2002. The α -amylase induction in endosperm during rice seed germination is caused by gibberellin synthesized in epithelium. Plant Physiol. 128: 1264-1270.
- Khan, I. 2007. Citrus Genetics, Breeding and Biotechnology. Khan I, editor. CABI. Wallingford (GB).
- Khumaida, N., S. Ardie, C. Nugroho, Suwanto. 2011. Kinetin and calcium pantothenate effect on shoot multiplication in in vitro cultured *Cassava* var. Adira 2 and Adira 4. Proceedings of the 7th ACSA Conference.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman. J. Agrobiogen. 7(1): 63-68.
- Little, C., J. McDonald. 2003. Effects of exogenous gibberellin and auxin on shoot elongation and vegetative bud development in seedlings of *Pinus sylvestris* and *Picea glauca*. Tree Physiol. 23(2): 73-83.
- Mudge, K., J. Janick, S. Scofield, E. Goldschmidt. 2009. History of grafting. Horticultural Reviews. 35: 437-493.
- Naz, A., M. Jaskani, H. Abbas, M. Qasim. 2007. In vitro studies on micrografting technique in two cultivars of citrus to produce virus free plants. Pak. J. Bot. 39(5): 1773-1778.
- Obeidy, A., M. Smith. 1991. A versatile new tactic for fruit tree micrografting. Hort. Technology. p. 91-94.
- Ogawa, M., A. Hanada, Y. Yamauchi, A. Kuwahara, Y. Kamiya, S. Yamaguchi. 2003. Gibberellin biosynthesis and response during *Arabidopsis* seed germination. The Plant Cell. 15: 1591-1604.
- Pena, L., M. Trilo, J. Juarez, J. Pina, L. Navarro, J. Zapater. 2001. Constitutive expression of *Arabidopsis* Leafy or Apetalal genes in citrus reduces their generation time. Nature Biotechnology. 19: 263-267.
- Pierik, R. 1998. In Vitro Culture of Higher Plants. Springer. Manhattan (US).
- Purnamaningsih, R., E.G. Lestari. 1998. Multiplikasi tunas temu giring melalui kultur *in vitro*. Bul. Plasma Nutfah. 1(5): 24-27.

- Roistacher, C. 2004. *Diagnosis and Management of Virus and Virus Like Diseases of Citrus*. Springer. Houten (NL).
- Susanto, S., H. Sugeru, S. Minten. 2010. Pertumbuhan vegetatif dan generatif batang atas jeruk Pameló 'Nambangan' pada empat jenis interstok. *J. Hort. Indonesia* 1(2): 53-58
- Tambing, Y. 2008. Keberhasilan pertautan sambung pucuk pada mangga dengan waktu penyambungan dan panjang entris berbeda. *J. Agro.* 15(4): 296-301.
- Vieira, A., M. Vieira, A. Fraga, J. Oliveira, C. Santos. 2002. Action of gibberellic acid (GA₃) on dormancy and activity of α -amylase in rice seeds. *Rev. bras. sementes.* 24(2): 101-103.