

Organogenesis Tanaman Jeruk Keprok (*CITRUS NOBILIS LOUR.*) Secara *In Vitro* Pada Media MS Dengan Penambahan berbagai Konsentrasi IAA (*INDOLE ACETID ACID*) Dan BAP (*BENZYL AMINO PURIN*)

Harliana^{1*}, Weaniati², Muslimin² dan I Nengah Suwastika¹

¹Lab.Bioteknologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako

²Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Kehutanan Universitas Tadulako

ABSTRACT

*Research on "Organogenesis of Tangerine orange (*Citrus nobilis Lour*) on MS medium supplemented with various concentrations of IAA and BAP," has been performed at the Tissue Culture Laboratory of the Faculty of Forestry, Tadulako University, Palu during the period of January and May 2012. The goal of this study was to determine the optimum growth factor combination of IAA and BAP in MS based medium, for organogenesis of the plant. This research was arranged on Completely Randomized Design (CRD) with six treatments and three replications. Growth factor combinations tested in this study were: 0.1 ppm IAA + 0.4 ppm BAP (C1), 0.1 ppm IAA + 0.6 ppm BAP (C2), 0.1 ppm IAA + 0.8 ppm BAP (C3), 0.1 ppm IAA + 1.0 ppm BAP (C4), 1.0 ppm IAA + 0.6 ppm BAP (C5), and 1.0 ppm IAA + 1.0 ppm BAP (C6). The result indicating that the best organogenesis of Orange explant was in MS medium supplemented with 0.1 ppm IAA and 1.0 ppm BAP (C4). This medium was suitable in inducing shoot and leaf, faster than its in other medium. Explant on this medium was also produced higher number of leaves than it on other treatments.*

Keywords: BAP, *Citrus nobilis Lour*, IAA, Tissue culture

ABSTRAK

Penelitian tentang organogenesis tanaman Jeruk Keprok (*Citrus nobilis Lour*) pada media MS dengan penambahan berbagai konsentrasi IAA dan BAP, telah dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Kehutanan Universitas Tadulako dari bulan Januari sampai Mei 2012. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh kombinasi zat pengatur tumbuh IAA dan BAP pada medium dasar MS yang paling baik dalam mendorong organogenesis eksplan Jeruk. Percobaan didasarkan pada Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 3 kali ulangan. Kombinasi ZPT yang dicobakan adalah: 0,1 ppm IAA + 0,4 ppm BAP (C1); 0,1 ppm IAA + 0,6 ppm BAP (C2); 0,1 ppm IAA + 0,8 ppm BAP (C3); 0,1 ppm IAA + 1,0 ppm BAP (C4); 1,0 ppm IAA + 0,6 ppm BAP (C5), dan 1,0 ppm IAA + 1,0 ppm BAP (C6). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penanaman pada medium MS dengan penambahan 1,0 ppm IAA dan 1,0 ppm BAP (C4) memberikan hasil yang paling baik. Hal ini ditandai dengan saat muncul tunas dan daun tercepat, serta jumlah tunas dan daun yang lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

Kata kunci : BAP, IAA, Jeruk keprok (*Citrus nobilis Lour.*), Kultur jaringan

* Corresponding Author phone (+6285341020990)
Email : Harliana_bio@yahoo.com

PENDAHULUAN

Jeruk keprok (*Citrus nobilis* Lour.) merupakan salah satu spesies dari sekian banyak spesies jeruk yang sudah dikenal dan dibudidayakan di Indonesia (Zahara, 2002). Jeruk keprok (*C. nobilis*) menduduki posisi yang penting dalam dunia perdagangan jeruk, dan diperkirakan sekitar 60% kebutuhan akan buah jeruk dipenuhi oleh jeruk keprok (Sarwono, 1995). Jeruk ini merupakan salah satu komoditas hortikultura yang mendapat prioritas untuk dikembangkan karena memiliki nilai ekonomis yang tinggi sehingga dapat meningkatkan perekonomian nasional (Ibad, 2009).

Dinegara berkembang, kulit dari jeruk sudah diolah menjadi parfum karena memiliki bau yang khas. Selain itu, kandungan gizi dalam jeruk ini juga dapat digunakan untuk terapi kesehatan seperti pertahanan tubuh, anti kanker, memerangi infeksi virus, dan menurunkan kadar kolesterol dalam tubuh (Ball, 1997). Adapun kandungan gizi dari buah jeruk yaitu kaya akan vitamin C, mengandung 50 mg/100 ml sari buah, serta vitamin A yang dapat memenuhi kecukupan gizi dalam tubuh, serta mengandung flavonoid, pektin, kalsium, dan asam folat yang mampu meningkatkan kesehatan dalam tubuh (Septrianti, 2010).

Minimnya produksi jeruk di Sulawesi Tengah, membuat para pedagang mandatingkan jeruk impor dari luar daerah. Hal ini masih disebabkan karena ketersediaan bibit unggul yang masih relative sedikit. Diperparah lagi dengan adanya beberapa virus, hama dan penyakit yang masih sering dijumpai pada tanaman ini. Salah satu penyakit yang sangat sulit untuk diatasi yaitu serangan pathogen sistemik CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) yang terus meningkat.

Kultur jaringan merupakan salah satu alternative yang dapat dilakukan untuk mendapatkan bibit tanaman unggul yang banyak dan dalam waktu yang singkat (Sarwono, 1995). Menurut Gunawan (1992), kultur jaringan merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengisolasi bagian tanaman seperti sel, jaringan dan organ dalam medium aseptik sehingga bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi membentuk tanaman lengkap kembali.

Keberhasilan dalam penggunaan metode *in vitro* ini sangat tergantung pada media yang digunakan. Pada penelitian ini digunakan medium MS sebagai medium dasar dengan penambahan zat pengatur tumbuh IAA (*Indole Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purin*) sebagai fitohormon sintetik. Menurut Flick *et al.* (1993) kombinasi antara sitokinin dengan auksin dapat memacu morfogenesis dalam pembentukan organ. Cline (1994) dan Tamas (1995) dalam Fatmawati *et al.* (2010) juga menyatakan bahwa auksin dan sitokinin berperan dalam pertumbuhan tunas aksilar dan akar lateral.

Tetapi yang menjadi permasalahan yaitu belum diketahuinya konsentrasi IAA dan BAP yang efektif dalam organogenesis tanaman jeruk keprok. Maka dari itu penelitian ini dilakukan untuk menemukan konsentrasi IAA dan BAP yang paling efektif untuk organogenesis tanaman jeruk keprok.

METODOLOGI

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Mei 2012 di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Kehutanan Universitas Tadulako.

Penelitian ini didesain dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 6 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuannya yaitu:

C1 = MS + IAA 0.1 ppm + BAP 0.4 ppm

C2 = MS + IAA 0.1 ppm + BAP 0.6 ppm

C3 = MS + IAA 0.1 ppm + BAP 0.8 ppm

C4 = MS + IAA 0.1 ppm + BAP 1.0 ppm

C5 = MS + IAA 1.0 ppm + BAP 0.6 ppm

C6 = MS + IAA 1.0 ppm + BAP 1.0 ppm

Pertama semua peralatan meliputi botol kultur, cawan petri, dan pinset dicuci dengan menggunakan sabun cuci, dibilas, kemudian dikeringkan. Setelah kering, semua alat tersebut disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121⁰C dan tekanan 17 Psi (kg/cm²) selama 20 menit.

Perkecambahan biji dilakukan di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC) yang telah dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70%. Sebelum itu, biji dicuci terlebih dahulu dengan detergen, larutan Dithane M-45 dan larutan Bactomycin masing-masing selama 30 menit dan dibilas hingga bersih. Kemudian di beri sinar UV selama 30 menit dalam laminar. Biji disterilisasi dengan larutan chlorox 15 % selama 15 menit dan dibilas hingga bersih. Kemudian kulit biji dikupas dan dibelah dengan menggunakan pisau *scalpel*. Dan ditanam dalam media MS₀ secara aseptik

Kecambah steril yang berumur ± 30 HST dipotong menjadi 2 bagian dan bagian kotiledonnya digunakan sebagai eksplan. Penanaman eksplan kotiledon kedalam botol yang berisi media perlakuan dilakukan secara aseptik. Tiap-tiap botol berisi 2 eksplan.

Pengamatan berakhir setelah 30 HST dengan parameter penelitian yaitu: Saat munculnya tunas dinyatakan dalam Hari Setelah Tanam, saat munculnya daun dinyatakan dalam Hari Setelah Tanam, jumlah tunas yang terbentuk, jumlah daun yang terbentuk dan ada tidaknya akar yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, semua media perlakuan yang dicobakan pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh mampu mendorong organogenesis eksplan kotiledon jeruk keprok. Hal ini menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh tanaman berperan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman seperti yang ungkapkan oleh Davies (1995) dalam Gaba (2005).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang terbentuk yaitu melalui organogenesis secara langsung. Organogenesis langsung yaitu suatu proses pembentukan organ tanpa didahului dengan terbentuknya kalus. Hal ini terlihat pada tunas, daun dan akar yang berhasil didinduksi oleh semua media perlakuan yang dicobakan pada media MS dengan penambahan ZPT IAA dan BAP dalam berbagai konsentrasi

Penggunaan eksplan kotiledon pada penelitian ini dikarenakan bagian kotiledon dapat menyerap air lebih cepat sehingga dapat menginduksi tunas lebih cepat daripada bagian epikotil. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rahman *et al.* (2008) yang menyatakan bahwa penyebab mudah terbentuknya tunas pada eksplan kotiledon karena struktur permukaan kotiledon memiliki sel-sel yang memang berfungsi untuk penyerapan air.

Dalam proses menuju inisiasi tunas, terjadi perubahan ukuran dan warna kotiledon dalam semua media perlakuan. Ukuran kotiledon menjadi agak besar dan warnanya berubah dari kehijauan menjadi hijau tua pada 10 hari setelah tanam (HST) sampai kotiledon bertunas. Membesarnya ukuran eksplan menunjukkan terjadinya pertumbuhan pada eksplan tersebut karena nutrisi dan suplay makanan yang terpenuhi. Sedangkan perubahan warna hijau tua yang terjadi disebabkan karena terbentuknya klorofil yang dirangsang oleh cahaya.

Semua media perlakuan yang dicobakan terhadap eksplan kotiledon memberikan respon yang baik terhadap pembentukan tunas dan daun (Gambar 1).

Berdasarkan analisis sidikragam, waktu munculnya tunas dan daun tidak berbeda nyata untuk semua media perlakuan. Tetapi pada media perlakuan C2 dengan penambahan 0,1 ppm IAA dan 0,6 ppm BAP cenderung lebih cepat menginduksi tunas dan daun dibandingkan media perlakuan yang lain. Hartmann *et al.* (1997) menyatakan bahwa penggunaan sitokinin dengan konsentrasi yang tinggi dan auksin yang rendah sangat penting dalam pembentukan organ. Dalam hal ini penambahan 0,6ppm BAP kedalam media sudah cukup tinggi untuk menginduksi tunas dan daun.

Dari keenam media yang dicobakan, pada eksplan kotiledon berhasil menginduksi tunas aksilar, tunas adventif, dan pucuk adventif. Tunas aksilar lebih mendominasi diantara semua

eksplan. Hal ini disebabkan karena terdapatnya mata tunas pada bagian ketiak antara batang dengan kotiledon pada kecambah jeruk sehingga lebih memudahkan terbentuknya tunas aksilar ketika mendapat konsentrasi hormone sitokinin yang mencukupi. Sedang tunas dan pucuk adventif hanya terlihat pada beberapa media perlakuan saja. Tunas advent merupakan organ yang terbentuk tanpa adanya mata tunas dan terbentuk secara langsung tanpa didahului dengan adanya kalus. Begitupun dengan pucuk adventif. (Gambar 2)

Jumlah tunas yang terbentuk pada penelitian ini, tidak berbeda nyata berdasarkan analisis sidik ragam. Tetapi, jumlah tunas terbanyak cenderung diinduksi oleh media perlakuan C1 pada media MS dengan penambahan 0,1 ppm IAA dan 0,4 BAP dengan rata-rata 1,33. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Fatmawati *et al.* (2006) yang melaporkan bahwa 0,5 ppm IAA dan 2 ppm BAP berhasil menginduksi tunas terbanyak dengan rata-rata tunas 34 tunas/eksplan pada tanaman *Nicotina tabacum*. Hal ini juga sesuai dengan pernyataan Hendaryono *et al.*(1994) bahwa dalam metode Mohr rasio perbandingan auksin dan sitokinin untuk multiplikasi tunas adalah 1:4. Berdasarkan respon yang terjadi dapat diketahui bahwa sitokinin sangat penting dalam menginduksi tunas.

Untuk parameter jumlah daun memberikan hasil yang berbeda nyata pada semua media perlakuan (Gambar 3). Dari gambar 4.3 menunjukkan bahwa, Jumlah daun terbanyak terdapat pada media C4 yaitu pada media MS dengan penambahan 0,1 ppm IAA dan 1,0 ppm BAP dengan rata-rata 3. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Syara (2006) bahwa dengan kombinasi antara 0,2 ppm IAA dan 2,0 ppm BAP cenderung menghasilkan jumlah daun terbanyak pada tanaman *Anthurium andreaenum*. Hasil ini juga sesuai dengan hasil penelitian Mirzada (1994) dalam Syara (2006) bahwa dengan penambahan BAP 1,0 ppm pada *calla lilly* membentuk persentase daun terbanyak yaitu sebesar 83.33%. Wareing dan Phillips (1970) menyatakan bahwa konsentrasi dari auksin dan sitokinin pada media kultur menunjukkan bahwa hormon-hormon tersebut memiliki peranan penting dalam pembentukan organ.

Pada penelitian ini juga dapat dilihat respon terbentuknya akar pada media perlakuan. Perakaran dengan kualitas yang baik sangat menentukan keberhasilan dalam tahap aklimatisasi. Untuk itu formulasi media yang tepat sangat menentukan kualitas akar. Pembentukan akar tersebut dapat dihasilkan pada media yang sama untuk pertunasan. Tetapi hal ini sangat jarang dilakukan karena dalam proses perbanyakan, penggandaan tunas lebih diutamakan baru setelah itu proses untuk menginduksi akar (Tabel 1).

Peningkatan konsentrasi auksin dari sitokinin dapat menginduksi akar, menurut Wetherell (1982) dan Janick (1986) perbandingan sitokinin-auksin yang rendah baik untuk pembentukan akar. Tapi berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada media perlakuan C5 yaitu pada media MS dengan penambahan 1,0 ppm IAA dan 0,6 ppm BAP masih menginduksi tunas dan belum mampu menginduksi akar. Hal ini dapat disebabkan oleh konsentrasi sitokinin endogen dalam tanaman masih sangat tinggi dari pada konsentrasi auksinnya. Menurut Gunawan (1987) dalam proses pembentukan organ seperti akar perlu adanya interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan kedalam media, dengan zat pengatur tumbuh endogen yang diproduksi oleh jaringan tanaman itu sendiri.

Akar tumbuh baik pada media C1 ulangan I yaitu media MS dengan penambahan 0,1 ppm IAA dan 0,4 ppm BAP. Hal ini diduga karena pada media C1 terbentuk pucuk adventif yang dapat menghasilkan hormon auksin sehingga konsentrasi auksin dalam tanaman bertambah besar dan mampu menginduksi akar. Menurut Wattermina *et al.* (1992), hanya ada satu jenis auksin endogen yaitu IAA (*Indole Acetic Acid*) yang diproduksi di pucuk dan ditranslokasikan secara polar ke akar tanaman melalui floem. Pertumbuhan akar ini didahului dengan pertumbuhan tunas aksilar terlebih dahulu. Altman (1998) menambahkan bahwa pada proses organogenesis, eksplan akan menghasilkan tunas dan akar, namun keduanya tidak akan muncul bersamaan, biasanya tunas yang akan terbentuk lebih dulu.

KESIMPULAN

Semua media perlakuan yang dicobakan berhasil menginduksi tunas dan daun, tetapi tidak efektif dalam menginduksi akar. Perlakuan terbaik pada C4 yaitu pada media MS dengan penambahan 0,1 ppm IAA + 1,0 ppm BAP yang memberikan hasil jumlah daun terbanyak dengan rata-rata 3 lembar daun.

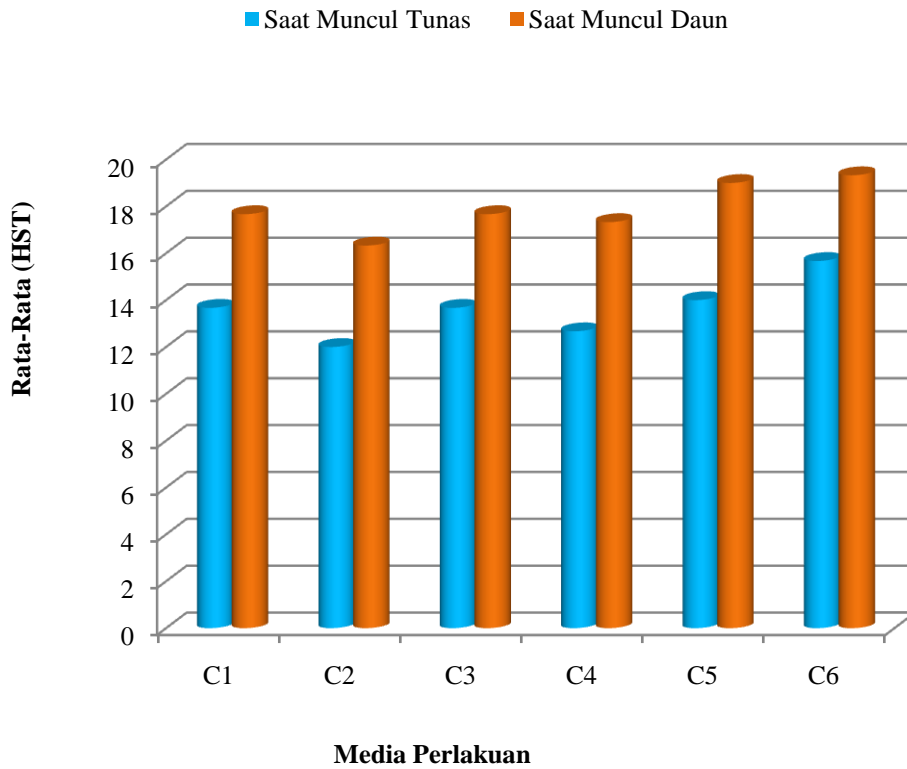
UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Haliana, SP dan Ibu Yustina Serli, SP. Yang telah membantu penulis selama penelitian di lab. Kulturjaringan.

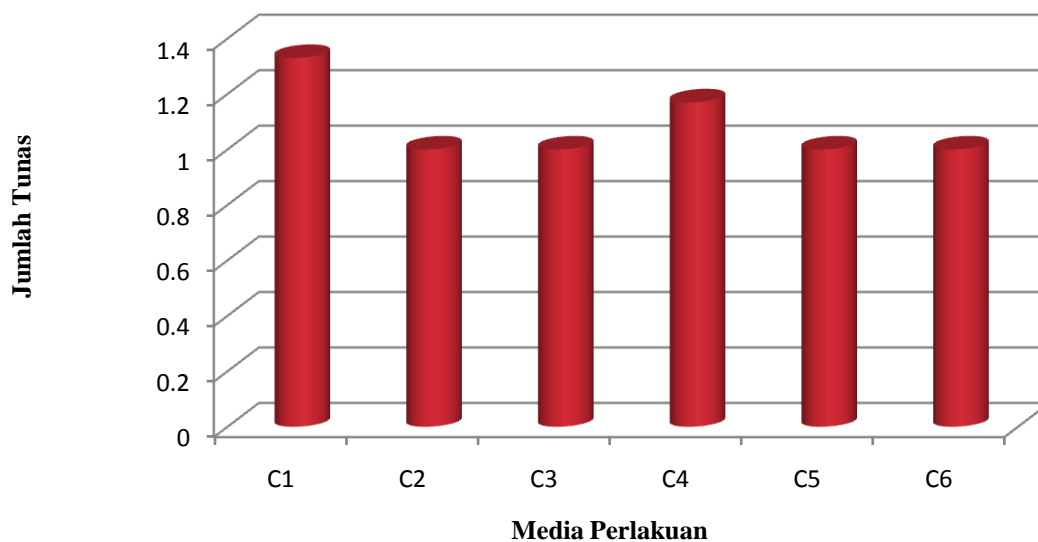
DAFTAR PUSTAKA

- Altman, A., And B. Loberant., 1998, *Micropropagation : Clonal Plant Propagation In Vitro*, p.19-42. In Arie Altman (Ed). *In Agricultural Biotechnology*, Marcel Dekker Inc, New York.
- Ball, J. S., 1997, *Fruit Growing*, Kalyani Publishers, New Delhi.

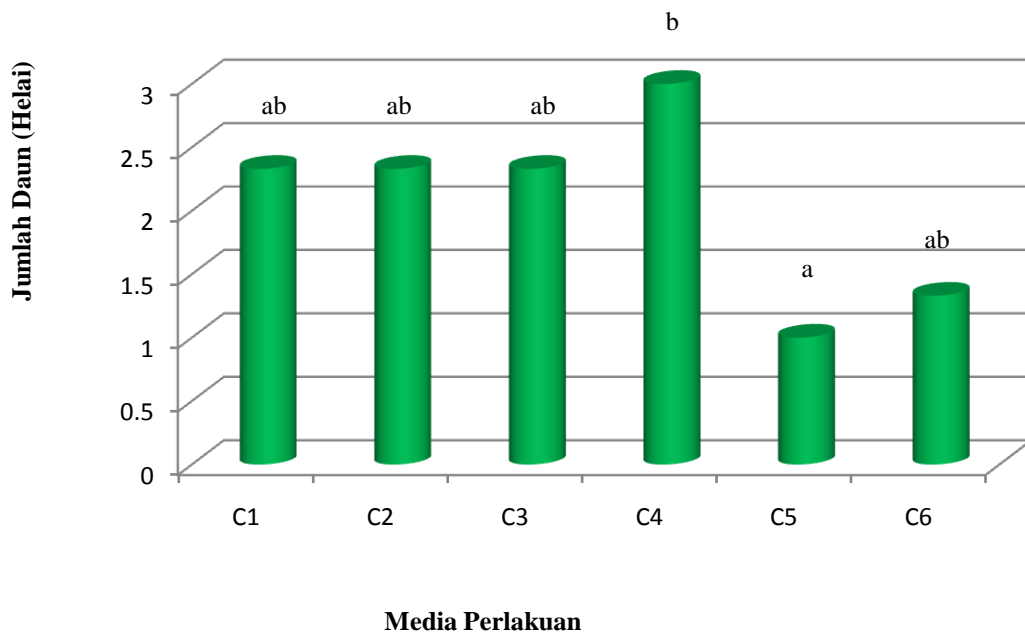
- Davies, P.J., 1995, *The Plant Hormone Their Nature, Occurrence And Function*. In Davies (Ed.) *Plant Hormone And Their Role In Plant Growth Development*, Dordrecht MartinusNijhoff Publisher.
- Fatmawati, T.A., T. Nurhudayanti, N. Jadid, 2010, *Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Iaa Dan Bap Pada Kultur Jaringan Tembakau Nicotiana Tabacum L. Var. Prancak 95*. Skripsi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Flick, C.E., D.A. Evans, And W.R. Sharp., 1993, *Organogenesis*, In D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Amirato, And T. Yamada (Eds.) *Handbook Of Plant Cell Culture Collier Macmillan*, Publisher London.
- Gaba, V.P., 2005, *Plant Growth Regulator*, In R.N. Trigiano And D.J. Gray (Eds.) *Plant Tissue Culture And Development*, Crc Press, London.
- Gunawan, L.W., 1987, *TeknikKulturJaringanTumbuhan*, PusatAntarUniversitas (PAU) InstitutPertanianBogor, Bogor.
- _____, 1988, *TeknikKulturJaringanTumbuhan*, PusatAntarUniversitas (PAU)InstitutPertanianBogor, Bogor.
- Hendaryono, D. P. S. & Wijayani, A., 1994, *Teknik Kultur Jaringan : Pengenalan Dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman Secara Vegetatif Modern*, Kanisius. Yogyakarta.
- Hartmann, H. T., D. E. Kester, F. T. Davies Jr And R. L. Geneve, 1997, *Plant Propagation Principles And Practices Sixth Edition*, Prentice Hall Inc, New Jersey.
- Ibad, I., 2009. *SeleksiTanaman F1 Jeruk (Citrus Sp.)PadaFasePembibitan*. (<http://elibrary.ub.ac.id/handle/123456789/27171>), diakses 20 Februari 2012.
- Janick, J., 1986, *Horticultural Science Fourth Edition*. W.H.Freeman and Co, New York.
- Rahman, I.B., B.S. Purwoko, I.S. Dewi., 2008, *Perbanyakkan Jeruk Besar Citrus Maxima (Burm.) Merr. Kultivar Cikoneng Dengan Eksplan Kotiledon Dan Epikotil*, Makalah SeminarDepartemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian IPB, Bogor.
- Sarwono, B., 1995, *Jeruk Dan Kerabatnya*, PenebarSwadaya, Jakarta.
- Syara, Siti., 2006, *PenggunaanIaa Dan Bap UntukMenstimulasi Organogenesis TanamanAnthuriumAndreanumDalamKulturIn Vitro*. SkripsiFakultasPertanianInstitutPertanian Bogor, Bogor.
- Wareing, P. F. and I. D. J. Phillips., 1970, *The Control of Growth and Differentiation in Plants*, Pergamon Press Ltd, England.
- Wetherell, D. F., 1982, *PengantarPropagasiTanamanSecaraIn Vitro* Seri TerjemahanOlehDra. Koensoemardiyah Seri KulturJaringanTanaman, Avery Publ.GroupInc, New Jersey.



Gambar 1 Waktu yang diperlukan untuk munculnya tunas dan daun pada eksplan yang ditanam pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh



Gambar 2 Jumlah tunas yang dibentuk oleh eksplan yang ditanam pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh



Gambar 3 Jumlah daun yang dibentuk oleh eksplan yang ditanam pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata

Tabel 1. Ada Tidaknya Akar

Media Perlakuan	Ulangan		
	I	II	III
C1	+	-	-
C2	-	-	-
C3	-	-	+
C4	-	-	-
C5	-	-	-
C6	-	-	-

Keterangan : + (Ada)
 - (Tidak Ada)