

INDUKSI TUNAS JERUK SIAM (*Citrus nobilis* Lour.) ASAL KAMPAR DENGAN PEMBERIAN BENZIL AMINO PURINE (BAP) SECARA *IN VITRO*

Rahmahayu¹, Siti Fatonah² dan Mayta Novaliza Isda²

¹Mahasiswa Program S1 Biologi

²Dosen Bidang Botani Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Kampus BinaWidya Pekanbaru, 28293, Indonesia

ayu_rahma92@yahoo.co.id

ABSTRACT

Citrus (*Citrus nobilis* Lour.) from Kampar is one of primary commodities from Riau province. However, virus attacks cause citrus plants become sick and even died, therefore it is difficult to find the healthy citrus plants. In order to recover this condition, it is necessary to provide citrus seedlings in large quantities. One alternative to provide citrus seedling in large quantities is through tissue culture technique (*in vitro* culture). This study aimed to find out the effect of benzil amino purine (BAP) and to determine the optimal concentration of BAP in inducing shoot of citrus. This experiment was designed using a randomized block design (RBD) with various concentrations of BAP. The results showed that the treatment with 1 mg/l BAP was the best in inducing the number of shoots (3 shoots/explant) and treatment with 0.5 mg/l BAP was the best in generating shoot length (3.11 cm) and number of leaves (5.26 piece/shoot).

Keywords: BAP, NAA, *Citrus nobilis*, bud induction, cotyledons

ABSTRAK

Jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour.) asal Kampar merupakan salah satu komoditas andalan Provinsi Riau. Namun serangan virus menyebabkan tanaman jeruk menjadi sakit bahkan mati sehingga sulit mendapatkan tanaman jeruk yang sehat. Untuk memperbaiki kondisi ini, perlu pengadaan bibit jeruk dalam jumlah banyak. Salah satu alternatif untuk menghasilkan tanaman jeruk dalam jumlah yang banyak adalah melalui teknik kultur jaringan (kultur *in vitro*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh BAP dan menentukan konsentrasi optimal BAP dalam menginduksi tunas jeruk siam. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan pemberian berbagai konsentrasi BAP. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan dengan pemberian 1 mg/l BAP terbaik dalam menghasilkan jumlah tunas (3 tunas/eksplan).

Perlakuan dengan pemberian 0,5 mg/l BAP terbaik dalam menghasilkan rerata panjang tunas (3,11 cm) dan Jumlah daun (5,26 helai/tunas).

Kata kunci: BAP, NAA, *Citrus nobilis*, induksi tunas, kotiledon

PENDAHULUAN

Jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour.) asal Kampar merupakan salah satu komoditas andalan provinsi Riau karena memiliki rasa yang manis dan berkulit tipis. Masalah utama yang banyak dihadapi petani jeruk saat ini adalah sulitnya mendapatkan tanaman jeruk yang sehat. Hal ini disebabkan oleh banyaknya sentra produksi tanaman jeruk yang terserang virus *Citrus Vein Phloem Degeneration* (CVPD). Penyakit CVPD yang menyerang tanaman jeruk siam mengakibatkan tanaman menjadi sakit bahkan mati, sehingga secara tidak langsung tanaman jeruk menjadi musnah dan produksi buah jeruk menjadi langka (Miryam *et al.*, 2008). Salah satu upaya perbanyakan untuk mendapatkan bibit jeruk dalam jumlah banyak adalah melalui teknik kultur *in vitro*. Kultur *in vitro* merupakan teknik perbanyakan tanaman yang dapat menghasilkan jumlah bibit yang banyak dalam waktu relatif singkat (Nurwahyuni, 2013).

Suatu bentuk aplikasi teknik *in vitro* yang bertujuan untuk perbanyakan tanaman disebut dengan mikropopagasi (Zulkarnain, 2009). Tahapan awal dari mikropopagasi adalah induksi tunas. Keberhasilan induksi tunas tergantung dari eksplan yang digunakan, kondisi kultur dan zat pengatur tumbuh yang diberikan pada media (Smith, 2000). Salah satu eksplan yang dapat digunakan untuk induksi tunas adalah biji. Biji jeruk bersifat poliembrioni yang terdiri dari dua jenis embrio yaitu embrio

zigotik dan embrio nuselar. Embrio nuselar mempunyai sifat yang sama dengan induknya dan terdapat pada bagian kotiledon (Setiono dan Supriyanto, 2005).

Penggunaan media kultur dan zat pengatur tumbuh yang sesuai merupakan syarat yang harus terpenuhi pada kultur *in vitro*. Media yang sering digunakan untuk sebagian besar spesies tanaman adalah media Murashige dan Skoog (Dixon, 1985). Media ini mengandung garam dan nitrat dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan media lain dan berhasil digunakan pada beberapa tanaman dikotil (Yuliarti, 2010).

Keberhasilan kultur *in vitro* juga ditentukan oleh zat pengatur tumbuh (zpt) yang diberikan. Zat pengatur tumbuh yang banyak digunakan adalah golongan sitokinin dan auksin (Wattimena *et al.*, 1992). Sitokinin merupakan zpt yang berfungsi untuk meregulasi pembelahan sel, memacu organogenesis, perkembangan kloroplas, menginduksi embriogenesis dan organogenesis (Salisbury dan Ross, 1995). *Benzylaminopurine* (BAP) merupakan sitokinin sintetik yang paling sering digunakan karena sangat efektif dalam menginduksi tunas, pembentukan daun, mudah didapat dan harganya relatif murah (George dan Sherrington, 1984).

Induksi tunas *in vitro* dari jeruk siam asal Kampar telah dilakukan oleh Purba (2013) dengan menggunakan

eksplan kotiledon dengan pemberian berbagai konsentrasi BAP. Hasil menunjukkan bahwa kontrol (tanpa pemberian BAP) terbaik dalam menginduksikan tunas terbanyak yaitu sebesar 91,67% dan panjang tunas tertinggi yaitu 3,10 cm. Jumlah tunas tertinggi (1,50 cm) pada kontrol dan perlakuan dengan pemberian 1 mg/l BAP, serta jumlah daun tertinggi (2,30 helai) pada 3 mg/l BAP. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh BAP dan menentukan konsentrasi optimal BAP dalam menginduksi tunas jeruk siam.

METODE PENELITIAN

a. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari hingga Mei 2014. penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Terpadu, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Riau.

b. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain: botol kultur, pipet tetes, gelas ukur, cawan petri, gelas kimia dan *erlenmeyer*, timbangan analitik, *hot plate*, *autoclave*, *laminar air flow cabinet*, pinset, *scalpel*, mata pisau, lampu bunsen, batang pengaduk, *sprayer*, rak kultur, panci enamel dan oven.

Bahan yang digunakan adalah Media MS, agar, sukrosa, BAP, 0,1N HCl, 0,1N NaOH, bakterisida, fungisida, deterjen, Na-hipoklorit (Bayclin), 70% alkohol, spiritus, iodine, tisu, plastik kaca, karet gelang, kertas saring, *aluminium foil* dan akuades.

c. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan.

d. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi sterilisasi alat, pembuatan media tanam, persiapan dan penanaman eksplan. pemeliharaan dilakukan dengan menjaga ruang inkubasi agar kondisinya selalu bersih dan steril. Pemeliharaan ruang inkubasi dengan menyemprotkan 70 % alkohol 2 hari sekali. Suhu ruang diatur 23-25°C dan diberi penyinaran dengan menggunakan lampu

e. Analisis Data

Pengamatan penelitian meliputi: eksplan hidup (%), pembentukan tunas dan akar (%), waktu terbentuknya tunas (hst), jumlah tunas (buah), tinggi tunas (cm) dan jumlah daun (helai). Data dianalisis statistik menggunakan ANOVA, apabila terdapat pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Persentase eksplan yang hidup dan potensi morfogenesis

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

Tabel 1. Persentase eksplan hidup, pembentukan tunas dan akar

Perlakuan BAP (mg/l)	Eksplan Hidup (%)	Pembentukan Tunas (%)	Pembentukan Akar (%)
-	100	75	75
0,25	100	75	75
0,50	100	100	100
0,75	100	100	75
1	100	100	100

Tabel 1. menunjukkan bahwa pemberian berbagai konsentrasi BAP tidak berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan hidup. Tingginya persentase eksplan hidup disebabkan karena prosedur sterilisasi eksplan dengan menggunakan deterjen dengan lama perendaman 30 menit, 2 g/l fungisida selama 10 menit, 2 g/l bakterisida selama 10 menit, 20% Na-Hipoklorit (Bayclin) selama 7 menit dan 70% alkohol selama 3 menit belum menyebabkan kerusakan jaringan, sehingga eksplan yang ditanam tidak mengalami kematian. Menurut Zulkarnain (2009) bahwa proses sterilisasi dapat bersifat meracuni jaringan. Oleh karena itu tingkat konsentrasi dan lama perlakuan dalam proses sterilisasi harus benar-benar diperhatikan agar mengurangi tingkat kematian eksplan.

Persentase pembentukan tunas tertinggi diperoleh pada perlakuan dengan pemberian 0,5-1 mg/l BAP yaitu sebesar 100%. Persentase pembentukan tunas terendah (75%) pada kontrol dan dengan pemberian 0,25 mg/l BAP. Wattimena *et al.*, (1992) menyatakan bahwa induksi tunas hanya memerlukan sitokinin dalam konsentrasi optimum tanpa auksin. Hasil ini lebih tinggi

dibandingkan hasil penelitian Mukhtar *et al.*, (2005) yang menunjukkan bahwa persentase pembentukan tunas tertinggi dari eksplan pucuk *Citrus reticulata* yaitu sebesar 84% pada pemberian 1 mg/l BAP.

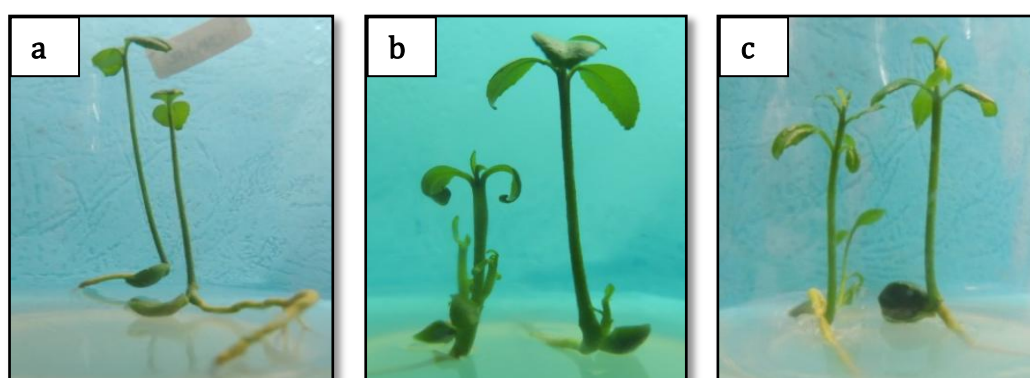
Persentase pembentukan akar tertinggi (100 %) didapat dari perlakuan dengan pemberian 0,5 dan 1 mg/l BAP. Persentase pembentukan akar terendah (75 %) pada kontrol, 0,25 dan 0,75 mg/l BAP. Kemampuan eksplan dalam menumbuhkan akar diduga karena adanya auksin endogen dalam eksplan. Sesuai dengan Gunawan (1987) dalam proses pembentukan organ seperti akar perlu adanya interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan ke dalam media dengan zat pengatur tumbuh endogen yang diproduksi oleh jaringan tanaman itu sendiri.

b. Pertumbuhan tunas

Respon eksplan terhadap pemberian berbagai konsentrasi BAP dalam menginduksikan tunas secara *in vitro* dapat dilihat pada Tabel 2. Morfologi tunas yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 2. Waktu terbentuk tunas (hst), jumlah tunas, panjang tunas dan jumlah daun dengan pemberian BAP

Perlakuan BAP	Parameter pengamatan			
	Waktu terbentuk tunas	Jumlah tunas	Panjang tunas	Jumlah daun
-	7,33	1,67	2,53	1,83 ^a
0,25	8,00	1,33	3,06	3,16 ^{ab}
0,50	5,00	2,67	3,11	5,26 ^c
0,75	8,00	2,00	2,93	4,16 ^{bc}
1	7,67	3,00	1,42	3,93 ^{bc}



Gambar 1. Morfologi tunas yang terbentuk pada (a) kontrol, (b) perlakuan 1 mg/l BAP dengan jumlah tunas terbanyak dan (c) perlakuan 0,5 mg/l BAP dengan panjang tunas tertinggi dan jumlah daun terbanyak

Tabel 2. menunjukkan bahwa pemberian berbagai konsentrasi BAP memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah daun namun tidak memberikan pengaruh nyata terhadap waktu terbentuk tunas, jumlah tunas dan panjang tunas. Waktu terbentuk tunas yang cenderung paling cepat diperoleh dari perlakuan dengan pemberian 0,5 mg/l BAP yaitu 5 hari setelah tanam (hst). Selanjutnya kontrol dengan menghasilkan tunas setelah 7,33 hst, perlakuan dengan pemberian 1 mg/l BAP mampu menginduksikan tunas setelah 7,67 hst dan perlakuan yang

menginduksikan tunas paling lama (8 hst) yaitu perlakuan dengan pemberian 0,25 dan 0,75 mg/l BAP.

Lamanya waktu pembentukan tunas pada kotiledon dimungkinkan karena sitokinin endogen pada eksplan berada dalam konsentrasi yang rendah. Hasil penelitian ini lebih cepat bila dibandingkan dengan hasil penelitian Purba (2013) yang menunjukkan bahwa eksplan kotiledon jeruk siam asal Kampar yang ditanam pada media kontrol mampu membentuk tunas setelah 10 hst.

Jumlah tunas terbanyak yaitu 3 tunas/eksplan mampu diinduksi oleh perlakuan dengan pemberian 1 mg/l BAP, selanjutnya perlakuan dengan pemberian 0,5 mg/l BAP dengan 2,67 tunas/eksplan. Jumlah tunas terendah didapat dari perlakuan dengan pemberian 0,25 mg/l yang hanya mampu menghasilkan 1,33 tunas per eksplan.

Terbentuknya tunas pada perlakuan dengan pemberian berbagai konsentrasi BAP menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh sitokinin yang diberikan pada media kultur telah mampu memicu pembentukan tunas. Menurut George dan Sherrington (1984) apabila sitokinin dalam media berada dalam jumlah yang sangat terbatas maka pembelahan sel akan terhambat dan apabila sitokinin dalam media berada dalam jumlah yang cukup, maka pembelahan sel akan lebih cepat. Pemberian sitokinin yang lebih tinggi sampai batas optimum akan memicu pembentukan tunas lebih banyak.

Normah *et al.*, (1997) mengamati jumlah tunas dari eksplan hipokotil *Citrus halimii* yang ditanam pada medium yang ditambahkan BAP. Peningkatan konsentrasi BAP dalam medium meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk dibandingkan dengan medium dasar yang digunakan sebagai kontrol dan jumlah tertinggi dari tunas (4,34 tunas per eksplan) pada perlakuan dengan pemberian BAP 1 mg/l.

Rerata panjang tunas tertinggi berhasil didapatkan dari perlakuan dengan pemberian 0,5 mg/l BAP yaitu 3,11 cm dan merupakan perlakuan yang optimal. Pemberian BAP dengan konsentrasi lebih tinggi maupun lebih rendah dari 0,5 mg/l BAP justru

menurunkan nilai rerata panjang tunas, dengan rerata panjang tunas terendah pada perlakuan dengan pemberian 1 mg/l BAP yaitu 1,42 cm.

Tunas yang sedang mengalami pemanjangan tidak membutuhkan sitokinin, walaupun organ tanaman tersebut membutuhkan sitokinin, kandungan sitokinin yang ada didalam jaringan sudah mencukupi (Salisbury dan Ross, 1995; Lakitan, 1996). Yelnitis (1999) menyatakan bahwa penggunaan sitokinin dalam konsentrasi yang tinggi menekan perkembangan tunas dan pemanjangan tunas. Sitokinin dengan konsentrasi rendah lebih baik untuk merangsang pemanjangan tunas dibandingkan dengan penggunaan sitokinin dengan konsentrasi tinggi.

Perlakuan dengan pemberian 0,5 mg/l BAP mampu menghasilkan rerata jumlah daun terbanyak yaitu 5,26 helai daun per tunas. Pemberian BAP dengan konsentrasi lebih tinggi maupun lebih rendah dari 0,5 mg/l BAP justru menurunkan nilai rerata jumlah daun yang terbentuk, dengan rerata jumlah daun terendah pada kontrol yang hanya mampu menghasilkan 1,83 daun per tunas.

Terbentuknya daun pada eksplan yang ditanam diduga karena kandungan sitokinin endogen pada eksplan dan yang diberikan secara eksogen pada media telah mampu memicu terbentuknya daun. Jumlah daun yang terbentuk pada eksplan yang ditanam dikendalikan oleh keseimbangan dan interaksi antara zat pengatur tumbuh baik yang terkandung dalam eksplan itu sendiri (endogen) maupun yang diserap dari media (eksogen). Salisbury dan Ross (1995)

menyatakan bahwa sitokinin berfungsi untuk memacu pembelahan sel dan pembentukan organ, memacu perkembangan pucuk, pembesaran sel terhadap kotiledon dan daun tumbuhan dikotil serta memacu perkembangan kloroplas dan sintesis klorofil.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan bahwa perlakuan dengan pemberian 1 mg/l BAP terbaik dalam menghasilkan jumlah tunas (3 tunas per eksplan). Perlakuan dengan pemberian 0,5 mg/l BAP terbaik dalam menghasilkan rerata panjang tunas (3,11 cm) dan Jumlah daun (5,26 helai per tunas).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara atas bantuan dana dari Universitas Riau melalui Lembaga Penelitian BOPTN Berbasis Laboratorium Tahun Anggaran 2014 atas nama Siti Fatonah, MP.

DAFTAR PUSTAKA

- Dixon, R.A. 1985. *Plant Cell Culture a Practical Approach*. Washington DC:Department of Biochemistry, Royal Holloway College. IRL Press Oxford
- George, E.F. dan Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Eastern Press. Reading Berks
- Lakitan, B. 1996. *Fisiologi tumbuhan dan Perkembangan Tanaman*. Jakarta: Grafindo Persada

Miryam, A., Suliansyah, I., Djamaran, A. 2008. Perbanyakan Jeruk Kacang (*Citrus nobilis* L.) pada Beberapa Konsentrasi NAA dan BAP pada Medium WPM secara *in vitro*. *Jerami* 1(2):1-8

Nurwahyuni, I. 2013. Teknik *In Vitro* Jeruk Keprok Brastagi (*Citrus nobilis* Brastepu) sebagai Strategi Biokonservasi Mengatasi Kepunahan Jeruk Lokal Sumatera Utara. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*

Purba, L. 2013. Induksi Tunas Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) asal Kampar dengan Pemberian Benzil Amino Purin (BAP) secara *In Vitro* [Skripsi]. Universitas Riau. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Salisbury, F dan Ross, C.W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB Bandung

Setiono dan Supriyanto. 2005. Poliembrional dan Seleksi Semaian Vegetatif pada Pembibitan Jeruk. *Sirkular Teknologi Inovasi Jeruk* 3

Smith, R.H. 2000. *Plant Tissue Culture Techniques and Experiments Second Edition*. USA: Academic Press

Wattimena, G.A., Gunawan, L.W., Mattjik, N.A., Syamsudin, E., Wiendi, N.M.A., Ernawati, A. 1992. *Bioteknologi Tanaman*.

- Pusat Antar Universitas. IPB. Bogor
- Yuliarti, N. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga : Pedoman Teknik dan Prospek Bisnis*. Yogyakarta: Penerbit ANDI
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman, Solusi Perbanyakan Tanaman Budidaya*. Jakarta: Bumi Aksara