

**INDUKSI TUNAS *IN VITRO* JERUK SIAM (*Citrus nobilis* Lour.)
ASAL KAMPAR DARI EKSPLAN TUNAS APEKS
DAN NODUS *IN VITRO***

Nurul Hidayati, Wahyu Lestari, Mayta Novaliza Isda

**Mahasiswa Program Studi S1 Biologi
Bidang Botani Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Kampus Bina Widya Pekanbaru, 28293, Indonesia
*Nurulll.hidayati@yahoo.com***

ABSTRACT

Citrus nobilis Lour. is a citrus plant that is highly demanded by many people in Riau. Propagation of *C. nobilis* Lour. has some problems due to various diseases that decrease its production. The conventional propagation of *C. nobilis*. requires a lot of parent plants and takes a long time, therefore the *in vitro* propagation is necessary. The purpose of this study was to determine the concentration of BAP and explant source as well as the interaction between both treatments in inducing *C. nobilis* bud. This research used a factorial randomized block design (RBD) with two factors i.e the concentration of BAP (0, 1, 2 and 3 mg / l) and the source of explants (shoot apex and 6 week *in vitro* nodes). All combined treatments showed no significant difference to the emerging bud, the number of shoots and length of shoot. The results showed that the addition of 2 mg/l BAP at the apex shoot and node explants were able to induce bud. Better explant sources in inducing bud was the node explants. The node explants at a concentration of 1 mg/l BAP gave better result in inducing bud.

Keywords: BAP, *Citrus nobilis*, Induction, Nodes, Apex shoots

ABSTRAK

Citrus nobilis Lour. merupakan tanaman jeruk yang banyak digemari oleh masyarakat Riau. Perbanyakkan *C. nobilis* Lour. memiliki kendala karena adanya berbagai penyakit sehingga produksinya semakin menurun. Perbanyakkan *C. nobilis* Lour. secara konvensional memerlukan tanaman induk yang banyak dan waktu yang lama sehingga perlu dilakukan perbanyakkan secara *in vitro*. Tujuan dari penelitian adalah untuk menentukan konsentrasi BAP dan sumber eksplan serta interaksi antar kedua perlakuan dalam menginduksi tunas *C. nobilis* Lour. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan dua faktor yaitu konsentrasi BAP (0, 1, 2 dan 3 mg/l) dan sumber eksplan (tunas apeks dan nodus *in vitro* berumur 6 minggu). Semua kombinasi perlakuan tidak menunjukkan perbedaan nyata terhadap hari muncul tunas

(HST), jumlah tunas dan panjang tunas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, penambahan BAP 2 mg/l pada eksplan tunas apeks dan nodus cenderung mampu menginduksi tunas. Sumber eksplan yang cenderung lebih baik dalam menginduksi tunas adalah eksplan nodus. Eksplan nodus pada konsentrasi 1 mg/l BAP merupakan kombinasi yang cenderung lebih baik dalam menginduksi tunas.

Kata kunci: BAP, *Citrus nobilis*, Induksi, nodus, tunas apeks

PENDAHULUAN

Jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour.) merupakan salah satu jenis jeruk yang bernilai ekonomis dan memiliki kandungan vitamin C cukup tinggi yang bermanfaat untuk kesehatan. Perbanyak jeruk siam memiliki kendala karena adanya berbagai penyakit sehingga produksi jeruk siam semakin menurun. Pengadaan bibit jeruk siam asal Kampar perlu penanganan tersendiri karena secara konvensional memerlukan waktu yang relatif lama dan menghasilkan jumlah bibit yang sedikit. Salah satu solusi yang dapat membantu dalam penyediaan bibit jeruk siam asal Kampar adalah dengan perbanyak secara *in vitro*. Teknik *in vitro* merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan karena mampu menghasilkan bibit dalam jumlah banyak, waktu yang tergolong singkat dan bibit yang dihasilkan memiliki sifat yang sama dengan induknya (Sandra, 2012).

Keberhasilan produksi bibit secara *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya umur kultur, komposisi media, metode kultur, jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) serta jenis media. Media Murashige Skoog (MS) merupakan media yang sering digunakan dalam kultur *in vitro*. Media MS merupakan salah satu media dasar yang memiliki komponen penting

seperti konsentrasi garam yang tinggi, vitamin dan ZPT (Sandra, 2012).

Zat pengatur tumbuh berfungsi untuk menstimulasi pertumbuhan eksplan, misalnya pertumbuhan tunas. Menurut Badriah *et al.* (1998) sitokinin berpengaruh terhadap inisiasi tunas dan panjang tunas. Sitokinin juga dapat memicu pembentukan tunas samping, pelebaran daun dan merangsang pembentukan pucuk. Jenis sitokinin yang paling sering dipakai adalah BAP (*6-benzylaminopurine*) karena memiliki efektivitas yang tinggi (Yustina, 2003). Hasil penelitian Simamora (2013), pemberian 2 mg/l BAP menghasilkan jumlah tunas terbanyak yaitu 1,0 tunas dibandingkan dengan konsentrasi 0, 1, 3, 4 dan 5 mg/l BAP pada *Citrus nobilis* Lour. Syaliza (2010) menyatakan pemberian BAP 2 mg/l pada media MS menghasilkan tunas terbanyak yaitu 5,25 tunas per eksplan pada eksplan epikotil tanaman *Citrus grandis*.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi keberhasilan dalam induksi tunas adalah sumber eksplan. Sumber eksplan dapat berasal dari lapangan atau hasil kultur *in vitro*. Penelitian Purba (2012) menghasilkan induksi tunas jeruk siam asal Kampar terbanyak pada eksplan kotiledon sebanyak 1,5 tunas pada perlakuan tanpa pemberian BAP. Penggunaan eksplan dari tunas apeks dan nodus *in vitro* diharapkan dapat menginduksi tunas yang banyak seperti pada kotiledon.

Pada penelitian Miah *et al.* (2008), pemberian 1,0 mg/l BAP menghasilkan jumlah tunas maksimum dari eksplan tunas apeks dan nodus *in vitro* masing-masing 2,84 dan 4,88 tunas per eksplan pada tanaman *Citrus macroptera* Mont. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk menentukan berapa konsentrasi BAP dan sumber eksplan *in vitro* (tunas apeks dan nodus) terbaik yang dapat menginduksi tunas jeruk siam asal Kampar serta bagaimana interaksi antara konsentrasi BAP dan sumber eksplan dalam menginduksi tunas secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

a. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari hingga April 2014, bertempat di Laboratorium Terpadu, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau.

b. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah *Laminar air flow cabinet* (LAFC) (Lab Tech), Autoklaf (*All American*) tipe 25X-2, timbangan analitik (Kern) tipe ABJ 120-4M, *hotplate* (PSelecta) tipe 048432, pH meter, Erlenmeyer, botol kultur, gelas ukur, gelas kimia, pipet tetes, cawan petri, pinset, spatula, *scalpel*, lampu Bunsen.

Bahan-bahan yang digunakan adalah media MS (Murashige Skoog, 1962), zat pengatur tumbuh BAP, akuades, alkohol 70%, HCl 1 N, NaOH 0,1 N, kertas saring, *tissue*, aluminium foil, karet gelang, eksplan tunas apeks dan nodus *in vitro* tanaman jeruk siam asal Kampar berumur 6 minggu.

c. Rancangan Penelitian

Penelitian menggunakan RAK (Rancangan Acak Kelompok) faktorial yang terdiri dari 8 kombinasi perlakuan dengan 5 ulangan.

d. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi persiapan dan sterilisasi alat, pembuatan media, persiapan dan penanaman eksplan serta pemeliharaan dilakukan dengan menjaga ruang inkubasi agar kondisinya selalu bersih dan steril. Pemeliharaan ruang inkubasi dengan menyemprotkan alkohol 70 % sekali 2 hari agar terhindar dari kontaminasi. Kultur diinkubasi pada ruangan bersuhu 23-25 °C dengan penyinaran lampu selama 30 hari.

e. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA, jika terdapat pengaruh yang nyata antar perlakuan diuji lanjut dengan DMRT (Duncan's Multiple Range Test) pada taraf 5 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penambahan BAP ke dalam media MS mampu memberikan respon pembentukan tunas pada tunas apeks dan nodus *in vitro* jeruk siam. Hasil penelitian dapat dilihat dari parameter pertumbuhan yaitu persentase pembentukan tunas dan eksplan yang hidup (%), waktu muncul tunas dan panjang tunas.

Berdasarkan analisis sidik ragam ANOVA semua kombinasi perlakuan tidak menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada semua parameter,

yaitu persentase pembentukan tunas (%), waktu muncul tunas dan panjang tunas.

1. Persentase Pembentukan Tunas (%) dan Eksplan Yang Hidup (%)

Persentase pembentukan tunas dan hidup eksplan pada eksplan tunas apeks dan nodus *in vitro* disajikan pada Tabel 1.

Eksplan tunas apeks dengan pemberian BAP mampu membentuk tunas. Peningkatan konsentrasi BAP cenderung meningkatkan persentase pembentukan tunas hingga konsentrasi 2 mg/l BAP dan menurun seiring peningkatan konsentrasi. Peningkatan konsentrasi BAP yang diberikan kemungkinan menjadi penghambatan untuk pembentukan tunas, sedangkan penurunan konsentrasi BAP yang diberikan menunjukkan bahwa BAP eksogen belum cukup mampu memicu pembentukan tunas yang lebih banyak. Tunas apeks mengandung auksin yang lebih tinggi dibandingkan dengan bagian tanaman lain. Konsentrasi auksin yang tinggi pada tunas apeks memicu terjadinya dominansi apikal. Dominansi apikal merupakan pertumbuhan ujung batang yang mendominasi pertumbuhan bagian lain sehingga pembentukan cabang aksilar akan terhambat (Salisbury dan Ross, 1995). Menurut Bhaskaran dan Smith (1990) menyatakan, efektifitas sitokinin yang ditambahkan bergantung pada konsentrasi hormon endogen pada jaringan tanaman. Penelitian Rahmi (2010) menghasilkan persentase pembentukan tunas tertinggi dari eksplan pucuk tanaman jeruk Kanci dengan pemberian BAP 2,5 mg/l yaitu 100%, namun pada konsentrasi BAP 5

dan 7,5 mg/l persentase pembentukan tunas menurun menjadi 88,89%.

Pada semua kombinasi perlakuan persentase eksplan yang hidup adalah sebanyak 100%, hal ini diduga karena komposisi zat dalam media yang digunakan hanya cocok untuk mendukung kelangsungan hidup eksplan tanpa mendukung untuk pembentukan tunas. Hasil penelitian Miah *et al.* (2008) pada tanaman *C. macroptera* menunjukkan persentase hidup tertinggi yaitu 93,33% pada eksplan nodus, namun lebih rendah dengan menggunakan eksplan pucuk yaitu 75%.

Tingginya persentase hidup eksplan tidak diikuti dengan persentase terbentuknya tunas yang tinggi pula. Eksplan yang tidak membentuk tunas dapat dilihat dari adanya perubahan pada morfologinya, misalnya perubahan warna eksplan.

Perubahan warna eksplan menjadi hijau kecoklatan dapat terjadi akibat pemotongan eksplan dan juga penggunaan mata pisau atau pinset yang terlalu panas. Menurut Santoso dan Nursandi (2003), pencoklatan adalah peristiwa alami dan merupakan suatu proses perubahan adaptif bagian tanaman akibat pengaruh fisik atau biokimia (memar, pengupasan atau pemotongan) sehingga menimbulkan warna coklat yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan eksplan.

Tabel 1. Persentase Pembentukan Tunas (%) dan Eksplan Yang Hidup (%) Selama 4 Minggu

Parameter	Jenis Eksplan	Konsentrasi BAP (mg/l)			
		0	1	2	3
% Tunas	Tunas Apeks	70	81	100	81
	Nodus	91	94	100	81
% Hidup	Tunas Apeks	100	100	100	100
	Nodus	100	100	100	100

Keterangan : Data merupakan hasil dari transformasi $\sqrt{(x+0,5)}$

2. Pertumbuhan Tunas *In Vitro*

2.1 Waktu Muncul Tunas

Hari muncul tunas merupakan salah satu parameter yang diamati pada pertumbuhan eksplan. Rerata hari muncul tunas dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan analisis sidik ragam ANOVA semua kombinasi perlakuan tidak menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata. Penggunaan konsentrasi BAP pada tunas apeks cenderung mempercepat munculnya tunas dibandingkan nodus. Penggunaan konsentrasi BAP yang tinggi lebih cenderung mempercepat pembentukan tunas. Pada tunas apeks terdapat hormon auksin yang menyebabkan terjadinya dominansi apikal. Auksin yang disintesis akan ditransportasi secara basipetal ke bagian bawah tanaman dan akan menyebabkan konsentrasi auksin di nodus menjadi tinggi. Konsentrasi auksin yang tinggi akan menghambat pembentukan hormon sitokinin yang

merangsang pembentukan tunas aksilar. Eksplan nodus pada konsentrasi 3 mg/l BAP cenderung memicu pembentukan tunas lebih cepat, tetapi lebih lama dibandingkan dengan eksplan tunas apeks pada konsentrasi yang sama. Auksin endogen diduga mempengaruhi lama munculnya tunas aksilar pada nodus, sehingga eksplan nodus akan lebih lama menginduksi tunas dibandingkan dengan eksplan tunas apeks. Hasil ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Miah *et al.* (2008), yang menyatakan bahwa pemberian 1,0 mg/l BAP pada tanaman *C. macroptera* Mont. menunjukkan hari muncul tunas tercepat pada eksplan nodus yaitu 6 HST dari pada menggunakan eksplan tunas apeks yaitu 7 HST. Perbedaan respon eksplan dikarenakan penggunaan jenis tanaman dan konsentrasi BAP yang berbeda sehingga respon yang dihasilkan juga berbeda.

Tabel 2. Waktu muncul tunas (HST) pada eksplan tunas apeks dan nodus *in vitro Citrus nobilis* Lour. Asal Kampar

Jenis Eksplan	Konsentrasi BAP (mg/l)				
	0	1	2	3	Rerata
Tunas Apeks	0,70	1,32	3,07	1,18	1,57
Nodus	2,48	1,35	2,48	1,32	1,91
Rerata	1,59	1,34	2,77	1,25	

Keterangan: Data merupakan hasil dari transformasi $\sqrt{(x+0,5)}$

2.2. Panjang Tunas

Tabel 3. Panjang tunas (cm) pada eksplan tunas apeks dan nodus *in vitro* *Citrus nobilis* Lour. Asal Kampar

Jenis Eksplan	Konsentrasi BAP (mg/l)				
	0	1	2	3	Rerata
Tunas Apeks	0,70	0,90	0,86	0,73	0,80
Nodus	0,81	0,77	0,82	0,74	0,79
Rerata	0,76	0,83	0,84	0,73	

Keterangan: Data merupakan hasil dari transformasi $\sqrt{(x+0,5)}$

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa BAP yang diberikan menunjukkan respon yang berbeda pada eksplan tunas apeks dan nodus terhadap pertumbuhan eksplan. Panjang tunas merupakan ukuran pertumbuhan tanaman yang paling mudah diukur dan diamati. Rerata panjang tunas dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan analisis sidik ragam ANOVA semua kombinasi perlakuan tidak menunjukkan pengaruh berbeda nyata. Tabel 3. menunjukkan bahwa eksplan tunas apeks pada penambahan 1 mg/l BAP cenderung mampu memicu terjadinya pemanjangan tunas, hal ini dikarenakan hormon auksin yang terdapat pada tunas apeks lebih tinggi dibandingkan dengan sitokinin yang diberikan. Konsentrasi auksin yang tinggi tanpa sitokinin atau dengan sedikit sitokinin akan merangsang pemanjangan sel. Auksin endogen yang terdapat pada tunas apeks yang tinggi akan memicu terjadinya pemanjangan tunas apeks dan menghambat pemanjangan tunas aksilar pada bagian nodus. Berbeda dengan hasil penelitian Miah *et al.* (2008) yang menghasilkan panjang tunas lebih tinggi pada konsentrasi 1 mg/l BAP yaitu pada eksplan nodus yaitu 22,20 cm

dibandingkan dengan eksplan pucuk 19,35 cm pada *C. macroptera*.

Menurut Intan (2008) dan Mahadi (2011) peran sitokinin lebih kepada pembelahan sel, mendorong pertumbuhan tunas samping dan mengatasi dominansi apikal dibandingkan dengan pemanjangan sel. Menurut Salisbury dan Ross (1995) batang yang sedang memanjang tidak memerlukan sitokinin walaupun organ tersebut membutuhkan hormon sitokinin untuk pemanjangan batang, kandungan di dalam jaringannya sudah mencukupi.

KESIMPULAN

Hasil penelitian mengenai induksi tunas *in vitro* jeruk siam asal Kampar dengan eksplan tunas apeks dan nodus *in vitro*, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi BAP yang cenderung lebih baik dalam menginduksi tunas pada eksplan tunas apeks dan nodus adalah pada konsentrasi 2 mg/l BAP. Sumber eksplan yang cenderung lebih baik dalam menginduksi tunas adalah pada eksplan yang berasal dari nodus. Penggunaan eksplan nodus dalam 1mg/l BAP merupakan kombinasi yang cenderung lebih baik dalam menginduksi tunas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada BOPTN Universitas Riau T. A 2014 berbasis laboratorium dan Laboratorium Biologi Terpadu Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau.

DAFTAR PUSTAKA

- Badriah D., N.T. Mathius, T. Sutater. 1998. Tanggap Dua Kultivar Gladiol Terhadap Zat Pengatur Tumbuh pada Perbanyak In Vitro. *J. Hort.* 8(2): 1048-1059.
- Balitbang. 2011. Jendela Informasi Riau. <http://www.riauonline.com/berita/print/balitbang-sukses-teliti-jeruk-carizzo-dan-siam-kampar.html>. [diakses tanggal 19 desember 2013].
- Bhaskaran, S. dan Smith, R.H. 1990. *Regeneration in Cereal Tissue Culture: A Review. Crop Science* 30.
- Gunawan, L.W. 1987. *Teknik Kultur In Vitro dalam Holtikutura*. Penebar Swadaya Anggota IKAPI. Jakarta.
- Intan, R.D.A. 2008. *Peranan dan Fungsi Fitohormon Bagi Pertumbuhan Tanaman*. Fakultas Pertanian. Universitas Pajajaran.
- Mahadi, I. 2011. Pematihan Dormansi Biji kenerak (*Goniothalamus umbrosusu*) Menggunakan hormon 2,4-D dan BAP Secara Mikropropagasi. *Sagu*. 10(1): 20-23.
- Miah M. Nesawar, Islam S, Hadiuzzaman S. 2008. An Improved Protocol for Multiple Shoot Regeneration from Seedling and Mature Explants of *Citrus macroptera* (M.). *Plant. Tiss. Cult. & Biotech.* 18(1): 17-24.
- Mukhtar R., Khan M. Mumtaz, Fatima B., Abbas M., Shahid A. 2005. *In Vitro* Regeneration and Multiple Shoots Induction in *Citrus reticulata* (Blanco). *Int. J. of Agr. & Bio.* 7(3): 414-416.
- Purba, L. 2012. Induksi Tunas Secara *In Vitro* dari Biji Utuh dan Kotiledon Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) Asal Kampar dengan Pemberian *Benzylaminopurine* (BAP). [Skripsi]. Pekanbaru: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau.
- Rahmi I, Suliansyah I, Bustamam T. 2010. Pengaruh Pemberian beberapa Konsentrasi BAP dan NAA Terhadap Multiplikasi Tunas Jeruk Kanci (*Citrus sp*) Secara *In Vitro*. *Jerami*, 3(3).
- Razdan, M.K. 2003. *Introduction Plant Tissue Culture. Second Edition*. USA. Science Publisher.
- Salisbury, F dan Ross, W.C. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Bandung. ITB Bandung.
- Sandra, E. 2013. *Cara Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan Skala Rumah Tangga*. Bogor: IPB Press.
- Santoso dan Nursandi. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang. Universitas Muhammadiyah Malang
- Simamora, L. 2012. Multiplikasi Tunas *In Vitro* Jeruk Siam (*Citrus nobilis*

Lour.) Asal Kamper dengan Pemberian BAP dan NAA. [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau.

Syaliza, R.D. 2010. Induksi Tunas dari Potongan Epikotil Jeruk Bali (*Citrus grandis* L.) pada Medium MS Dan MT dengan Penambahan beberapa Konsentrasi BAP Secara *In Vitro*. [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas.

Wattimena, G.A., Gunawan, L.W., Mattjik, N.A., Syamsudin, E., Wiendi, N.M.A., Ernawati, A. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB. Bogor.

Witjaksono. 1992. Kultur Jaringan Jeruk Jepara. *Pros. Seminar Hasil Litbang SDH 6 Mei 1992. Balitbang Botani, Puslitbang Biologi LIPI. Bogor.*

Yustina. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara In Vitro*. Jakarta: Agromedia Pustaka.