

Perbanyak Bibit Jeruk Citromelo dan JC Secara *In Vitro*

Triatminingsih, R dan Karsinah

Balai Penelitian Tanaman Buah, Jl. Raya Solok-Aripan Km 8, Solok 27301

Naskah diterima tanggal 30 Oktober 2003 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 4 Agustus 2004

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Penelitian Tanaman Buah, Solok, Sumatera Barat, pada Februari sampai dengan Desember 2002. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan media perbanyak dan protokol teknik perbanyak tanaman jeruk citromelo dan Japanche citroen secara *in vitro*. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan sembilan ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa varietas mempunyai respons yang berbeda-beda terhadap media perlakuan, namun secara keseluruhan biaya produksi bibit batang bawah jeruk dapat ditekan dari penggantian sukrosa dengan gula pasir. Komposisi media untuk regenerasi tunas citromelo yang cocok adalah MT + 0,5 mg/l BAP + 0,02 mg/l NAA + 40 mg/l adenin sulfat + 30 g/l gula pasir dengan kecepatan multiplikasi tunas citromelo mencapai 6,25 tunas per eksplan. Komposisi media pengakaran yang cocok untuk citromelo adalah MS + 1 mg/l NAA + 30 g/l gula pasir. Media untuk regenerasi tunas JC adalah MT+0,5 Mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+30 g/l gula pasir. Protokol dalam proses produksi bibit batang bawah jeruk JC dan citromelo dimulai dari inisiasi kalus pada media B5 yang diperkaya dengan BAP+2,4-D kemudian kalus disubkulturkan ke media 0,1-0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA. Setelah terbentuk tunas dengan tinggi 2-3 cm dipindahkan ke media pengakaran, dan 3-4 minggu kemudian plantlet siap diaklimatisasi atau ditransplan ke media campuran tanah dalam polibek.

Kata kunci: Jeruk; Citromelo; Japanche citroen; Perbanyak; Media; *In vitro*

ABSTRACT. Triatminingsih, R. and Karsinah. 2004. *In vitro* propagation of citromelo and JC. This research was conducted at Indonesian Fruit Research Institute, Solok, West Sumatera, from February until December 2002. The objective of the research was to find out technology *in vitro* regeneration of citromelo and JC. The treatments were arranged in RCBD with nine replications. Results showed that the variety tested have indicated the same response to the media used and the cost was significantly reduced through the replacement of sucrose with sugarcane. Composition of media for citromelo regeneration is MT + 0,5 mg/l BAP + 0,02 mg/l NAA + 40 mg/l adenine sulphate + 30 g/l sugarcane with rate of sprouts production at 6.25 plantlets each explant, while for rooting media was MS + 1 mg/l NAA + 30 g/l sugar cane. Media for JC sprout regeneration was MT+0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+30 mg/l sugarcane. Protocol for understam seedling production of citromelo and JC was initiated by using B5 media enrich with BAP+2,4-D for callus initiation and then subcultured to media of 0,1-0.5 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA. After the sprout reached 2-3 cm height then transferred to rooting media. After 3-4 weeks, the plantlets were acclimatized and transplanted to mixture soil media in a polybag.

Keywords: Citrus; Citromelo; Japanche citroen; Propagation; Media; *In vitro*.

Peran batang bawah sangat penting terhadap pengembangan jeruk di daerah marjinal. Pemilihan jenis batang bawah perlu disesuaikan dengan lokasi pengembangan. Selama ini varietas yang digunakan sebagai batang bawah jeruk adalah japanche citroen (JC) atau rough lemon (RL). Tetapi JC dan RL ini sebaiknya tidak digunakan pada daerah endemis penyakit busuk akar *Phytophthora* sp. dan tanah masam. Hasil pelepasan varietas jeruk sebagai kandidat unggul jeruk batang bawah adalah citromelo dan volkameriana. Volkameriana mempunyai daya adaptasi tinggi terhadap kekeringan. Sementara itu, citromelo mempunyai toleransi sedang terhadap kekeringan, namun mempunyai toleransi baik terhadap tanah masam, dan cukup toleran terhadap *Phytophthora* sp., berbuah tidak terus menerus, dan jumlah biji sebanyak 51 biji/buah. Selain itu citromelo mempunyai

respons tinggi terhadap produktivitas varietas batang atas, dan meningkatkan kadar jus buah (Purnomo *et al.* 2000).

Program pengembangan tanaman jeruk menuntut adanya penyediaan bibit jeruk bebas penyakit, baik batang atas maupun batang bawah. Pada umumnya batang bawah jeruk diperbanyak dengan biji. Sebaiknya biji yang digunakan mempunyai derajat embrio nuselar yang tinggi, sehingga keseragaman batang bawah lebih terjamin (Starrantino & Caruso 1983). Bila materi yang tersedia terbatas, maka perbanyak dapat dilakukan dengan teknik kultur *in vitro*, di mana pada tanaman jeruk dapat dilakukan dengan cara kultur ovul (Ollitraul 1990), kultur nuselar (Navarro & Juarez 1977), kultur tunas pucuk (Starrantino & Curaso 1983;), dan kultur internod batang yang berasal

dari perkecambahan *in vitro* maupun dari tanaman dewasa (Harada & Murai 1996; Perez & Ochoa-Alejo 1997). Teknik ini berguna untuk industri pembibitan jeruk dalam skala besar, terutama untuk varietas-varietas tertentu yang ketersediaan bijinya sangat terbatas atau bergantung musim. Oleh karena itu, penguasaan teknik tersebut sangat diperlukan.

Di antara formula media MT dan MS yang dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh BAP, NAA dan 2,4-D, terdapat formula yang sesuai untuk pembentukan embrio dan tunas. Perbanyakkan bibit jeruk bebas penyakit yang efisien dapat dilakukan secara *in vitro*. Efisiensi dapat dicapai melalui peningkatan frekuensi multiplikasi per satuan waktu atau pun biaya proses produksi, terutama sumber karbon dan pematid media yang digunakan dalam kultur jaringan. Apabila sukrosa yang digunakan sebagai sumber karbon dibeli dengan harga Rp.400.000,-/kg. maka biaya sumber karbon yang diperlukan untuk pembuatan 10 l media hanya Rp.80.000,-. Sedangkan bila sumber karbon yang digunakan adalah gula pasir dengan harga Rp. 4.000,-/kg, maka biaya sumber karbon untuk pembuatan 10 l media hanya sebesar Rp.1.200,-. Penyediaan varietas unggul, baik batang bawah maupun batang atas yang bebas penyakit, memerlukan teknologi perbanyakkan tanaman secara *in vitro* yang dikembangkan untuk penyediaan bibit jeruk bebas penyakit yang murah.

Proses atau tahapan untuk memproduksi tanaman secara *in vitro* adalah (1) penentuan/seleksi varietas, (2) induksi pertumbuhan eksplan, (3) multiplikasi, (4) pengakaran, dan (5) aklimatisasi. Setiap tahapan tersebut memerlukan komposisi media yang berbeda.

Penelitian teknik perbanyakkan bibit jeruk secara *in vitro* telah menghasilkan protokol teknik pembentukan embrio dan tunas secara *in vitro*. Hasil penelitian Triatminingsih *et al.* (2003) menunjukkan bahwa kalus proembrio dapat terbentuk pada media MS yang diperkaya dengan 2,4-D sebanyak 0,5 mg/l dan dikombinasikan dengan BAP 0,05-0,1 mg/l. Banyaknya kalus proembrio tersebut bervariasi, bergantung varietas. Kalus proembrio dapat tumbuh menjadi tunas, setelah disubkultur pada media MS yang diperkaya dengan BAP 1-5 mg/l (Triatminingsih *et al.* 2003). Penelitian tersebut

dilanjutkan dengan memodifikasi sumber karbon pada media kultur dengan gula pasir. Diperkirakan bahwa gula pasir 30 g/l media dapat menggantikan sukrosa 20 g/l.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan media perbanyakkan dan komposisi media dan protokol teknik perbanyakkan tanaman jeruk citromelo dan jupanchi citroen secara *in vitro*. Dampak dari penelitian ini adalah tersedianya teknologi perbanyakkan bibit jeruk bebas penyakit yang efisien untuk mendukung pengembangan jeruk di Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Rumahkasa Balai Penelitian Tanaman Buah, Solok, Sumatera Barat, mulai Februari sampai dengan Desember 2002.

Bahan tanaman (pohon induk) yang digunakan adalah batang bawah citromelo dan JC. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap sebanyak sembilan ulangan, dengan perlakuan adalah komposisi media.

Tahap proliferasi

Media yang digunakan adalah media perbanyakkan tanaman jeruk berdasarkan hasil penelitian Harada & Murai (1996), serta Perez & Ochoa-Alejo (1997) yang dimodifikasi. Bahan kultur berupa kalus embriogenik yang dihasilkan pada tahun 2001. Untuk meningkatkan frekuensi terbentuknya kalus embriogenik atau tunas, maka kalus embriogenik disubkulturkan pada media MT, dengan komposisi sebagai berikut:

1. MT+0,02 mg/l NAA+0,1 mg/l BAP.
2. MT+0,1 mg/l 2,4-D+0,1 mg/l BAP.
3. MT+0,05 mg/l 2,4-D+0,05 mg/l BAP.

Ketiga komposisi media tersebut ditambah *malt extract* (ME) dengan konsentrasi 0 dan 200 mg/l dan sukrosa 30 g/l. Setelah 8 minggu, calon tunas yang terbentuk disubkulturkan atau ditransplan ke media perakaran.

Selain ketiga komposisi di atas, kalus embriogenik yang telah diperoleh disubkultur pula pada media dasar MT, sebagai berikut:

1. 1 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+20 g/l sukrosa.

2. 0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+20 g/l sukrosa.
3. 0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+40 mg/l adenin +20 g/l sukrosa.
4. 40 mg/l adenin+20 g/l sukrosa.
5. 1 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+30 g/l gula pasir.
6. 0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+30 g/l gula pasir.
7. 0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+40 mg/l adenin+30 g/l gula pasir.
8. 40 mg/l adenin+30 g/l gula pasir.

Kultur diinkubasi dalam ruang pemeliharaan yang bersuhu $\pm 24-26^{\circ}\text{C}$, dengan pencahayaan lampu fluoresen ± 2.000 lux 16 jam per hari. Setiap perlakuan terdiri dari sembilan ulangan, menggunakan rancangan acak lengkap.

Tahap pengakaran

Pengkulturan pada media pengakaran. Tunas yang dihasilkan dari media proliferasi dengan ukuran tinggi $\geq 2-3$ cm, selanjutnya disubkulturkan pada media pengakaran:

1. MS+1 mg/l IBA+30 g/l gula pasir+8 g/l agar teknis.
2. $\frac{1}{2}$ MS+1 mg/l IBA + 30 g/l gula pasir+8 g/l agar teknis.
3. MS+1 mg/l NAA+30 g/l gula pasir+8 g/l agar teknis.
4. $\frac{1}{2}$ MS+1 mg/l NAA+30 g/l gula pasir+8 g/l agar teknis.

Kultur diinkubasi dalam ruang pemeliharaan yang bersuhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$ dengan pencahayaan lampu

fluoresen ± 2.000 lux 16 jam per hari selama 4-8 minggu. Setiap perlakuan terdiri dari sembilan ulangan, menggunakan rancangan acak lengkap.

Peubah yang diukur meliputi: persentase pembentukan tunas, kecepatan multiplikasi tunas, persentase tunas berakar, dan jumlah akar per tunas

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahap proliferasi

Hasil subkultur kalus embriogenik yang dihasilkan dari penelitian sebelumnya ternyata menjadi melimpah. Kalus tersebut *friabel* dan warnanya putih bening apabila media subkultur mengandung ME, sedangkan media subkultur yang tidak mengandung ME kalusnya berwarna hijau dan 2-3 minggu setelah subkultur mulai membentuk tunas. Media subkultur yang tidak mengandung ME adalah MT+0,02 mg/l NAA+0,1 mg/l BAP sampai dengan MT+0,05 mg/l 2,4-D+0,05 mg/l BAP. Pada pengamatan 64 HST, tunas citromelo paling banyak terbentuk pada media MT+0,02 mg/l NAA+0,1 mg/l BAP, yaitu sebanyak 126 tunas mikro. Sedangkan pada MT+0,1 mg/l 2,4-D+0,1 mg/l BAP dan MT+0,05 mg/l 2,4-D+0,05 mg/l BAP terbentuk tunas mikro berturut-turut sebanyak 115 dan 91 tunas. Tunas mikro citromelo paling banyak pada pengamatan sebelumnya, yaitu 26 HST terjadi pada perlakuan MT+0,1 mg/l 2,4-D+0,1 mg/l BAP. Hal itu disebabkan tunas yang terbentuk sebelumnya menjadi coklat atau mati dan tidak dihitung pada pengamatan sesudahnya (64 HST). Di samping itu, persentase bertunas dan kecepatan multiplikasi tertinggi dicapai pada media MT+0,1 mg/l 2,4-D+0,1 mg/l BAP (Tabel 1). Dilihat dari komposisinya, hal itu mungkin

Tabel 1. Pertumbuhan tunas citromelo pada media proliferasi, 26 HST (*Citromelo sprouts growth on proliferation media at 26 DAP*)

Perlakuan (Treatments)	Kecepatan multiplikasi tunas *) (Rate of sprout multiplication) 26 HST(DAP)	Pertumbuhan tunas 26 HST (Sprouts growth 26 DAP) %
0,02 mg/l NAA+0,1 mg/l BAP	9,16 a	70,83 a
0,1 mg/l 2,4-D+0,1 mg/l BAP	14 b	91,67 b
0,05 mg/l 2,4-D+0,05 mg/l BAP	8 a	90,83 b

*) Satuan kecepatan multiplikasi (*Unit of multiplication rate*) : n tunas per eksplan (*Sprout per explant*); HST (DAP) = Hari setelah tanam (*Day after planting*)

Tabel 2. Pertumbuhan kalus citromelo, 64 HST dan keadaan daun yang lebar pada tiga macam media (*Callus citromelo growth at 64 DAP and status of sprout with narrow and broad leave at three kinds of media*)

Perlakuan (<i>Treatments</i>)	Perbandingan kalus/akar (<i>Calli-root ratio</i>)	Perbandingan tunas berdaun sempit dan lebar (<i>Ratio of large and narrow leave</i>)
0,02 mg/l NAA+0,1 mg/l BAP	70/30	35/65
0,1 mg/l 2,4-D+0,1 mg/l BAP	66/33	85/15
0,05 mg/l 2,4-D+0,05 mg/l BAP	75/25	50/50

disebabkan oleh peranan NAA. Kombinasi BAP dan NAA pada perbandingan tertentu, cocok untuk meningkatkan terbentuknya jumlah tunas. Di samping itu, adanya auksin yang tinggi dalam media akan menyebabkan berlangsungnya pemecahan sel, bila tidak diimbangi oleh adanya sitokinin (BAP). Sitokinin cenderung memacu pembentukan klorofil, sedangkan auksin menyebabkan penghambatan pembentukan klorofil (George & Sherrington 1984; Dixon 1985). Menurut Bon & Berthon (1987), penambahan NAA dapat memacu inisiasi eksplan sebanyak 45% dibandingkan dengan media tanpa NAA. Mulai umur 50 HST terjadi pencoklatan tunas, yang mengindikasikan bahwa biakan yang bersangkutan harus segera disubkulturkan pada media baru.

Selain membentuk tunas, ternyata pada media MT terbentuk pula kalus dan akar. Persentase akar yang terbentuk terbanyak adalah pada media MT+0,1 mg/l 2,4-D+0,1 mg/l BAP namun kalusnya terbentuk paling sedikit dengan perbandingan 66/33. Pada media ini dapat dilihat pula keadaan daunnya, yaitu lebih banyak yang sempit (kecil-kecil) daripada yang lebar (Tabel 2). Menurut Ling & Iwamasa (1997), bahwa peningkatan BAP pada batas tertentu memacu

kecepatan proliferasi kalus. Di dalam kultur jaringan dibutuhkan kesetimbangan auksin dan sitokinin yang tepat untuk mengatur morfogenesis. Konsentrasi auksin yang rendah dan konsentrasi sitokinin yang tinggi sering digunakan untuk multiplikasi tunas (George & Sherrington 1984).

Sedangkan pada JC, ternyata jumlah tunas terbanyak terbentuk pada media MT+0,1 mg/l 2,4-D+0,1 mg/l BAP. Persentase eksplan bertunas terbanyak terjadi pada perlakuan MT+0,02 mg/l NAA+0,1 mg/l BAP, yaitu sebesar 80,83%. Namun persentase eksplan bertunasnya terendah pada perlakuan MT+0,05 mg/l 2,4-D+0,05 mg/l BAP yaitu 76,67%, walaupun demikian dibandingkan dengan perlakuan lain tidak berbeda nyata (Tabel 3).

Pada JC multiplikasinya dapat mencapai 5,16 sampai 8,5 tunas per eksplan dan persentase bertunas hampir merata pada semua perlakuan. (Tabel 3). Persentase bertunas dua varietas pada komposisi media MT ini berkisar antara 70,83 sampai dengan 91,67%. Persentase tertinggi dari masing-masing varietas terjadi pada komposisi yang berlainan untuk citromelo terjadi pada media MT+0,1 mg/l 2,4-D+0,1 mg/l BAP,

Tabel 3. Pertumbuhan tunas JC 38 HST pada media perlakuan (*Growth of JC sprout at 38 DAP on media tested*)

Perlakuan (<i>Treatments</i>)	Kecepatan multiplikasi tunas *) (<i>Multiplication rate</i>) 38 HST (DAP)	Jumlah tunas (<i>Shoot number</i>)	Pertumbuhan eksplan bertunas (<i>Explants sprout growth</i>) %
0,02 mg/l NAA+0,1 mg/l BAP	5,16 b	42 b	80,83 ns
0,1 mg/l 2,4-D+0,1 mg/l BAP	8,5 a	67 a	78,33 ns
0,05 mg/l 2,4-D+0,05 mg/l BAP	6,3 ab	48 b	76,67 ns

*) Lihat Tabel 1 (*See Table 1*)

Tabel 4a. Jumlah tunas yang tumbuh pada varietas batang bawah jeruk JC pada media perlakuan (*Number of sprout growth of JC citrus understem at media tested*)

Perlakuan (<i>Treatments</i>)	Kecepatan multiplikasi tunas *) (<i>Multiplication rate</i>) 3 MST (<i>WAP</i>)	Eksplan bertunas (<i>Explants sprouting</i>) %
40 mg/l adenin sulfat (AS)+S	5,00 b	66,67
1 mg/l BAP , 0,02 mg/l NAA)+S	7,67 d	83,33
0,5 mg/l BAP, 0,02 mg/l NAA)+S	10,20 e	100,00
0,5 mg/l BAP, 0,02 mg/l NAA, 40 mg/l AS)+S	6,33 c	91,67
40 mg/l adenin sulfat (AS) +G	4,00 a	32,50
1 mg/l BAP , 0,02 mg/l NAA+G	7,33 dc	86,67
0,5 mg/l BAP, 0,02 mg/l NAA+G	6,67 c	100,00
0,5 mg/l BAP, 0,02 mg/l NAA, 40 mg/l AS+G	7,00 dc	75,00

*) Satuan kecepatan multiplikasi (*Unit of multiplication rate*); n tunas/eksplan (*sprout/explant*)
S = Sukrosa (*Sucrose*); G = gula pasir (*Sugarcane*); MST (*WAP*) = Minggu setelah tanam (*Week after planting*)

sedangkan JC pada media MT+0,02 mg/l NAA+0,1 mg/l BAP.

Untuk mendapatkan tunas yang banyak dan vigor maka tunas hasil proliferasi segera disubkulturkan pada media baru. Kalus yang disubkultur pada media ini dapat membentuk tunas dengan kecepatan multiplikasi yang bervariasi mulai dari 1 sampai dengan 10 tunas per eksplan. Pada media 0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+ sukrosa, yaitu 3 minggu setelah tanam, varietas JC ini menunjukkan kecepatan multiplikasi tunas mencapai 10,2 tunas per eksplan (Tabel 4), sedangkan pada media MT+0,02 mg/l NAA+0,1 mg/l BAP dapat mencapai 5,16 tunas setelah 34 HST (Tabel 3).

Bila dilihat komposisi medianya, ternyata kenaikan konsentrasi BAP dapat menyebabkan multiplikasi meningkat. Konsentrasi BAP pada media yang cocok untuk multiplikasi tunas adalah 0,5 mg/l. Pada konsentrasi tersebut, nampaknya mempunyai keseimbangan yang tepat dengan auksin (NAA 0,02 mg/l) untuk multiplikasi tunas. Komposisi media yang hanya ditambah adenin adalah yang paling rendah multiplikasinya pada kedua varietas. Jumlah tunas terbanyak yang muncul pada masing-masing varietas yang diteliti terjadi pada komposisi media yang berbeda. Lama pemeliharaan dalam botol untuk disubkultur adalah 4–5 minggu setelah kultur.

Tabel 4b. Jumlah tunas yang tumbuh pada varietas batang bawah jeruk citromelo pada media uji (*Number of sprouts growth of citromelo citrus understem on media tested*)

Perlakuan (<i>Treatments</i>)	Kecepatan multiplikasi tunas *) (<i>Multiplication rate</i>) 3 MST (<i>WAP</i>)	Eksplan bertunas (<i>Explants sprouting</i>) %
40 mg/l adenin sulfat (AS)+S	2,33 b	25,00
1 mg/l BAP +0,02 mg/l NAA+S	6,33 d	54,17
0,5 mg/l BAP, 0,02 mg/l NAA+S	4,67 c	48,60
0,5 mg/l BAP, 0,02 mg/l NAA, 40 mg/l AS+S	6,33 d	50,00
40 mg/l adenin sulfat +G	1,33 a	75,00
1 mg/l BAP , 0,02 mg/l NAA+G	4,67 c	62,50
0,5 mg/l BAP, 0,02 mg/l NAA+G	7,67 e	56,28
0,5 mg/l BAP, 0,02 mg/l NAA, 40 mg/l AS+G	5,67 d	87,50

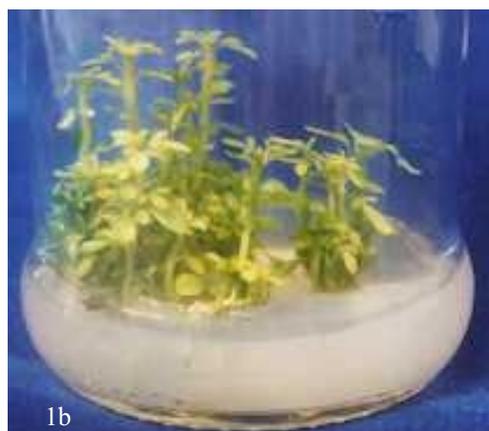
*) Lihat Tabel 4a (*See Table 4a*)

Tabel 5. Pertumbuhan akar JC dan citromelo pada media perakaran (*Growth of JC and citromelo root at rooting media*)

Perlakuan (<i>Treatments</i>)	Rataan jumlah akar (<i>Root number</i>) Helai (<i>Number</i>)	Rataan panjang akar (<i>Root length</i>) cm	Pertumbuhan akar (<i>Root growth</i>) %
Japanche Citroen			
MS+1 mg/l IBA	1,69 a	2,2 a	25
½ MS+1 mg/l IBA	1,88 a	2,1 a	28
MS+1 mg/l NAA	5,16 c	2,3 a	88
½ MS+1 mg/l NAA	3,69 b	2,2 a	84
Citromelo			
MS+1 mg/l IBA	1,28 a	2,0 a	33
½ MS+1 mg/l IBA	1,72 a	2,3 a	30
MS+1 mg/l NAA	3,80 c	2,8 a	80
½ MS+1 mg/l NAA	2,70 b	2,5 a	73

Eksplan/propagula/kalus embriogenik yang tidak segera disubkultur atau terlalu lama di dalam botol pada waktu tertentu tidak menyebabkan jumlah tunas bertambah, justru akan terjadi kematian tunas. Rataan selang waktu subkultur pada tahapan multiplikasi adalah 4–8 minggu. Oleh karena itu perlu diamati jumlah tunas maksimum pada kurun waktu tertentu. Rataan persentase bertunas maksimum terjadi pada 25 HST. Dengan mengetahui hal itu maka kita dapat memrediksi jumlah media yang harus disiapkan untuk memproduksi plantlet citromelo sejumlah tertentu.

Pada umur 4 minggu setelah kultur rata-rata persentase bertunas telah mencapai maksimum dan bahkan telah banyak yang mencapai 100%. Bahkan pada JC telah mencapai 100% pada 6 perlakuan dari 8 perlakuan media. Bila dilihat jumlah tunas citromelo pada 3 MST, ternyata perlakuan 0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+40 mg/l adenin+30 g/l gula pasir jauh berbeda dengan perlakuan 0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+40 mg/l adenin+20 g/l sukrosa ataupun 0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+30 g/l gula pasir. Nampaknya citromelo memerlukan adenin sulfat untuk multiplikasi. Sementara itu JC



Gambar 1a. Akar citromelo umur 34 hari setelah kultur pada media pengakaran (*Citromelo root 34 days after cultured at a media*).

1b. Multiplikasi tunas pada media MT+0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+30 g/l gula pasir (*Multiplikation sprout at media MT+0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+30 g/l sugarcane*)

memerlukan sumber karbon cukup banyak, karena gula pasir 30 g/l belum dapat menggantikan sukrosa 20 g/l (Tabel 4).

Tahap pengakaran

Rataan akar mulai tumbuh pada 7-10 hari setelah tanam pada media pengakaran. Pertumbuhan akar 1-2 MST pada media pengakaran pada plantlet jeruk batang bawah menunjukkan rata-rata panjang yang sama sekitar 2 cm. Sedangkan jumlah akar berbeda-beda, bergantung varietas dan media pengakaran. Rataan media pengakaran yang mengandung NAA lebih cocok dari pada media yang diperkaya dengan IBA. Media pengakaran yang diperkaya dengan NAA, memberikan persentase berakar yang lebih tinggi daripada media yang diperkaya dengan IBA. Pada batang bawah JC menunjukkan persentase berakar yang tertinggi, yaitu 88% kemudian disusul oleh citromelo 80%, terjadi pada media yang sama yaitu MS+1 mg/l NAA.

Dari Tabel 5 terlihat, bahwa tunas mikro jeruk JC maupun citromelo mempunyai respons yang baik terhadap media pengakaran atau perlakuan auksin. Salah satu peran auksin di dalam kultur jaringan, adalah menginduksi akar adventif. Pengaruh auksin yang optimum terhadap pengakaran berbeda-beda, bergantung jenis auksin dan jenis tanamannya. Priyono *et al.* 2000 menyatakan bahwa persentase berakar maksimal pada kultur jaringan bakal buah pisang, terjadi pada NAA 0,82 mg/l.

KESIMPULAN

1. varietas mempunyai respons yang berbeda-beda terhadap media perlakuan, namun secara keseluruhan biaya produksi bibit batang bawah jeruk dapat ditekan dari penggantian sukrosa dengan gula pasir.
2. Komposisi media untuk regenerasi tunas citromelo yang cocok adalah MT+0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+40 mg/l adenin sulfat+30 g/l gula pasir. Kecepatan multiplikasi tunas citromelo mencapai 6,25 tunas per eksplan.

3. Komposisi media untuk regenerasi tunas JC yang cocok adalah MT+0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA+20 g/l sukrosa.
4. Protokol dalam proses produksi bibit batang bawah jeruk JC dan citromelo dimulai dari inisiasi kalus pada media B5 yang diperkaya dengan BAP+2,4-D kemudian kalus disubkulturkan ke media 0,1-0,5 mg/l BAP+0,02 mg/l NAA. Setelah terbentuk tunas dengan tinggi 2-3 cm dipindahkan ke media pengakaran, 3-4 minggu kemudian plantlet siap diaklimatisasi/ditransplan ke media campuran tanah dalam polibek.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini kami ucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Sdri. Sucianik, Sdri Dwi Wahyuni dan Sdr. Ihsan yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

PUSTAKA

1. Bon, M.C. and J.Y. Berthon. 1987. Mikropropagation aspect of *Sequoiadendron giganteum* Juvenil and mature clone. In vitro problem related to mass propagation. *Acta Hort.* 212:489-497.
2. Dixon. R.A. 1985. *Plant cell culture, a practical approach*. IRL press. Oxford Washington DC. P.236.
3. George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. *Plant propagation by tissue culture*. Exegetics. Ltd. p.1-72.
4. Gmitter, F.G. Jr., X. B. Ling and X. X. Deng. 1990. Induction of triploid Citrus plants from endosperm calli in vitro. *Theor. Appl. Genet.* 80:785-790.
5. Harada and Murai. 1996. Clonal propagation of *Poncirus trifoliata* through culture of shoot primordia. *J. Hort. Sci.* 71(6):887-892.
6. Ling, J-T and M. Iwamasa. 1997. Plant regeneration from embryogenic calli of six citrus related genera. *Plant Cell. Tissue Organ Culture.* 49:145-148.
7. Navarro, L. dan J. Juarez. 1977. Elimination of Citrus Pathogens in Propagative Bud-wood. II. In vitro Propagation. *Proc. Int. Soc. Citriculture.* 3:973-987.
8. Ollitrault, P. 1990. *Somatic embryo grafting. A promising technique for citrus breeding and propagation*. ISCN 3rd Congress. Australia. 10 pp.
9. Perez, E. and N. Ochoa-Alejo. 1997. In vitro plant regeneration of Mexican lime and Mandarin by direct organogenesis. *Hort. Sci.* 32(5):931-934.

10. Priyono, Didi Suhardi, dan Matsaleh. 2000. Pengaruh zat pengatur tumbuh IAA dan 2-IP pada kultur jaringan bakal buah pisang. *J. Hort.* 10(3):183-190.
11. Purnomo, S., Nurhadi, Karsinah, Dedi Djatmiaadi S. Handayani, Sunyoto dan Sukarmin. 2000. *Usulan Pelepasan varietas Jeruk Batang Bawah. Balitbu Solok, Puslitbanghorti.* 27 hlm.
12. Starrantino, A. and A. Caruso. 1983. Micropropagation of Some Citrus Rootstocks. *1st World Congress of the International Society of Citrus Nurserymen.* Valencia. p.231-241.
13. Triatminingsih, R., Karsinah, Makful, Sucianik dan Sukarmin. 2003. Kultur in vitro batang bawah jeruk pada media dasar Murashige and Skoog dengan penambahan BAP dan NAA. *J. Ilmu Pert. Farming.* 1(3):87-93.