

RESPON EKSPLAN DAUN TANAMAN JERUK MANIS (*Citrus sinensis* L.) SECARA IN VITRO AKIBAT PEMBERIAN NAA DAN BA

Sri Wulandari^{*)}, Wan Syafii dan Yossilia
Laboratorium Botani Jurusan PMIPA FKIP
Universitas Riau, Pekanbaru 28293

Diterima 15 April 2004, Disetujui 13 Juni 2004

Abstract

The effect of Naphthalene Acetic Acid (NAA) and Benzyl Adenine (BA) of concentration of leaf explant *Citrus Sinensis* L. by in vitro was studied at tissue culture laboratory of Balai Benih Induk Pekanbaru. The experiment was conducted using Completely Randomized Design (RAL) with three replicates. The treatment consist of A (without NAA and BA), B (0,1 ppm NAA and 0,1 ppm BA), C (1 ppm NAA and 0,1 ppm BA), D (10 ppm NAA and 0,1 ppm BA), E (0,1 ppm NAA and 1 ppm BA), F (1 ppm NAA and 1 ppm BA), G (10 ppm NAA and 1 ppm BA), H (0,1 ppm NAA and 10 ppm BA), I (1 ppm NAA and 10 ppm BA) and J (10 ppm NAA and 10 ppm BA). The results of this experiment showed that respon growth of good leaf explant. NAA and BA at concentration 0,1; 1 and 10 ppm can yield forming of root and callus can't forming of buds. Callus initiation and root quickest of concentration 10 ppm NAA and 0,1; 1; 10 BA ppm that is 10,00 and 14,66. Amount root of concentration 1 ppm NAA and 10 ppm BA is 29,66 and wet weight of callus high at gave of concentration 10 ppm NAA and 10 ppm BA is 0,25 gr.

Key words : Eksplan, *Citrus Sinensis* L, NAA, BA

PENDAHULUAN

Jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) merupakan komoditas pertanian yang penting saat ini dan menempati posisi teratas dalam bidang agroindustri, baik sebagai buah segar maupun dalam bentuk olahan. Menurut Jumin (1997) permintaan jeruk manis terus meningkat karena harganya yang ekonomis dan banyak mengandung vitamin C, sehingga produksi jeruk manis belum mencukupi kebutuhan konsumsi jeruk dalam negeri. Hal ini merupakan tantangan dan peluang yang baik bagi para petani, pengusaha jeruk manis dalam meningkatkan produksi jeruk manis.

Kampar merupakan daerah sentra

produksi tanaman jeruk manis yang penting di Propinsi Riau. Berdasarkan hasil survey dilapangan, selama ini petani memperoleh bibit jeruk manis dalam bentuk okulasi antara jeruk asam sebagai batang bawah dan jeruk manis sebagai batang atas. Hal ini dilakukan karena sebagian besar pertumbuhan bibit alami jeruk manis sukar menghasilkan buah. Selain itu penyediaan bibit batang bawah harus didatangkan dari luar daerah Riau. Oleh karena itu perlu dicari alternatif pemecahan masalah pengadaan bibit jeruk manis dalam jumlah yang besar dan waktu yang singkat.

Menurut Suryowinoto (1996) salah satu alternatif pemecahan masalah yaitu melalui teknik kultur jaringan atau teknik invitro. Dalam budidaya tanaman dengan menggunakan teknik kultur jaringan, pemberian zat pengatur tumbuh dalam media tanam dan pemilihan eksplan sebagai bahan

*) Komunikasi Penulis :
Laboratorium Botani
Program Studi Pendidikan Biologi
FKIP Universitas Riau

inokulum awal yang ditanam dalam media perlu diperhatikan karena mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan eksplan tersebut menjadi bibit yang baru.

Penggunaan eksplan dari jaringan muda lebih sering berhasil karena sel-selnya aktif membelah, dinding sel tipis karena belum terjadi penebalan lignin dan selulose yang menyebabkan kekakuan pada sel. Gunawan (1995) menyatakan bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah : pucuk muda, batang muda, daun muda, kotiledon, hipokotil. Menurut Wattimena (1992) perbedaan dari bagian tanaman yang digunakan akan menghasilkan pola pertumbuhan yang berbeda. Eksplan tanaman yang masih muda menghasilkan tunas maupun akar adventif lebih cepat bila dibandingkan dengan bagian yang tua.

Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik yang bukan hara yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung (promote), menghambat dan merubah proses fisiologi tumbuhan (Abidin, 1995). Auksin dan sitokinin adalah zat pengatur tumbuh yang sering ditambahkan dalam media tanam karena mempengaruhi pertumbuhan dan organogenesis dalam kultur jaringan dan organ. Menurut Wattimena (1992) auksin sintetik perlu ditambahkan karena auksin yang terbentuk secara alami sering tidak mencukupi untuk pertumbuhan jaringan eksplan. Auksin mempunyai peranan terhadap pertumbuhan sel, dominasi apikal dan pembentukan kalus. Kisaran konsentrasi auksin yang biasa digunakan adalah 0,01 – 10 ppm.

Naphthalene Acetic Acid (NAA) adalah auksin sintetik yang sering ditambahkan dalam media tanam karena mempunyai sifat lebih stabil daripada Indol Acetic Acid (IAA). Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) IAA dapat mengalami degradasi yang disebabkan adanya cahaya atau enzim oksidatif. Oleh karena sifatnya yang labil IAA jarang digunakan dan hanya merupakan hormon alami yang ada pada jaringan tanaman yang digunakan sebagai eksplan. Sedangkan NAA tidak mudah terurai oleh enzim yang dikeluarkan sel atau pemanasan pada proses sterilisasi.

Sitokinin adalah zat pengatur tumbuh yang berperan dalam mengatur pembelahan sel serta mempengaruhi diferensiasi tunas pada jaringan

kalus. Menurut Mariska *et al.*, (1987) Benzyl Adenine (BA) merupakan zat pengatur tumbuh sintetik yang daya rangsangannya lebih lama dan tidak mudah dirombak oleh sistem enzim dalam tanaman. BA dapat merangsang pembentukan akar dan pembentukan tunas.

Penambahan auksin dan sitokinin secara kombinasi telah berhasil dilakukan terhadap beberapa spesies tanaman. Welander (1997) dalam Asmirda (1993) membuktikan bahwa rasio NAA dan BA yaitu 10 : 1 efektif untuk induksi tunas dan akar *Begonia sp.* Wijono dalam Prahardini dan Sudaryono (1992) membuktikan bahwa penambahan 3 mg/l NAA dan 2 mg/l BA efektif untuk induksi kalus pepaya dan jumlah kultur perkalus meningkat dengan peningkatan NAA dari 1 mg/l – 3 mg/l.

Berdasarkan kebutuhan zat pengatur tumbuh untuk pembentukan kalus, maka dalam media tanam perlu ditambahkan auksin dan sitokinin. Interaksi kedua zat ini mempengaruhi pertumbuhan, morfogenesis dalam kultur sel, kultur jaringan dan organ. Konsentrasi dari kedua zat pengatur tumbuh ini sering mengendalikan bentuk dan jumlah pertumbuhan suatu kultur, baik pertumbuhan kalus atau organogenesis. Sehubungan dengan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui respon eksplan daun tanaman jeruk manis secara invitro akibat pemberian NAA dan BA.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Benih Induk (BBI) Marpoyan Pekanbaru. Metode yang digunakan adalah eksperimen, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang diberikan terdiri dari : A (tanpa NAA dan BA), B (0,1 ppm + 0,1 ppm BA), C (1 ppm NAA + 0,1 ppm BA), D (10 ppm NAA + 0,1 ppm BA), E (0,1 ppm + 1 ppm BA), F (1 ppm NAA + 1 ppm BA), G (10 ppm NAA + 1 ppm BA), H (0,1 ppm + 10 ppm BA), I (1 ppm NAA + 10 ppm BA) dan J (10 ppm NAA + 10 ppm BA). Penelitian ini menggunakan Media Murashige dan Skoog (MS), eksplan daun diperoleh dari kecambah jeruk manis (*Citrus sinensis L.*) berumur

4 minggu yang ditumbuhkan secara invitro, Naphthalene Acetic Acid (NAA) dan Benzyl Adenine (BA).

Prosedur kerja dalam penelitian ini adalah : sterilisasi alat dan media dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 psi selama 15 menit. Penyediaan eksplan diperoleh dari benih F1 yang ditumbuhkan secara invitro pada media MS dasar tanpa zat pengatur tumbuh. Biji jeruk manis yang akan ditanam dalam media dikupas dan disterilkan dengan alkohol 70% kemudian dibilas dengan akuades. Setelah 4 minggu, daun dari kecambah ditanam dalam media perlakuan yang sudah ditambahkan NAA dan BA sesuai dengan konsentrasi perlakuan, diberi pematid bubuk agar 8 gr dan akuades hingga volume mencapai 1 liter dengan keasaman media pada pH 6,0. Media disterilkan kemudian dituang kedalam botol kultur sebanyak 20 ml ditutup dengan aluminium foil dan selanjutnya disterilkan dalam autoclaf, media dibiarkan selama 3 hari di rak kultur untuk melihat terkontaminasi atau tidak. Penanaman eksplan daun dilakukan dalam Laminar air flow yang sudah disterilkan. Botol yang telah berisi eksplan diletakkan pada rak kultur dan diberi cahaya 40 watt dengan suhu 24°C selama 2 bulan.

Parameter yang diamati meliputi : persentase tumbuh (%), saat munculnya (inisiasi) kalus, akar dan tunas (hari setelah pengkulturan), jumlah akar dan tunas serta bobot kalus. Data yang diperoleh dianalisis secara diskriptif dan Analisis Varian, untuk mengetahui perbedaan rerata pengaruh antar perlakuan dilakukan uji lanjut dengan Duncan Multiple Range Test (Steel & Torrie, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Respon eksplan daun tanaman jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) secara invitro akibat pemberian NAA dan BA selama 8 minggu pengkulturan terhadap persentase tumbuh dapat dilihat pada Tabel 1.

Pada Tabel 1 terlihat bahwa persentase tumbuh eksplan daun jeruk manis pada semua perlakuan 100%, hal ini disebabkan eksplan yang digunakan adalah daun dari pucuk yang mempunyai sifat meristematik sehingga sel-sel yang menyusun jaringan masih aktif membelah.

Tabel 1. Respon eksplan daun tanaman jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) secara in vitro akibat pemberian NAA dan BA terhadap persentase tumbuh

Perlakuan	Persentase Tumbuh (%)
A (Kontrol, tanpa NAA dan BA)	100
B (0,1 ppm NAA + 0,1 ppm BA)	100
C (1 ppm NAA + 0,1 ppm BA)	100
D (10 ppm NAA + 0,1 ppm BA)	100
E (0,1 ppm NAA + 1 ppm BA)	100
F (1 ppm NAA + 1 ppm BA)	100
G (10 ppm NAA + 1 ppm BA)	100
H (0,1 ppm NAA + 10 ppm BA)	100
I (1 ppm NAA + 10 ppm BA)	100
J (10 ppm NAA + 10 ppm BA)	100

Penambahan NAA dan BA secara eksogen kedalam media diduga dapat menginduksi sel-sel potongan jaringan sehingga aktivitas enzim dan metabolisme jaringan dapat bekerja dengan aktif. Konsentrasi NAA dan BA yang diberikan belum bersifat menghambat pertumbuhan jaringan.

Hasil pengamatan terhadap inisiasi kalus, akar dan tunas dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Respon eksplan daun tanaman jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) secara in vitro akibat pemberian NAA dan BA terhadap inisiasi kalus, akar dan tunas

Perlakuan	Inisiasi (hsp)		
	Kalus	Akar	Tunas
A (Kontrol, tanpa NAA dan BA)	-	-	-
B (0,1 ppm NAA + 0,1 ppm BA)	18,66	22,66	-
C (1 ppm NAA + 0,1 ppm BA)	11,33	20,0	-
D (10 ppm NAA + 0,1 ppm BA)	10,00	14,66	-
E (0,1 ppm NAA + 1 ppm BA)	14,00	18,00	-
F (1 ppm NAA + 1 ppm BA)	14,66	19,33	-
G (10 ppm NAA + 1 ppm BA)	10,00	14,66	-
H (0,1 ppm NAA + 10 ppm BA)	35,00	42,00	-
I (1 ppm NAA + 10 ppm BA)	14,00	22,66	-
J (10 ppm NAA + 10 ppm BA)	10,00	14,66	-

Keterangan : hsp : hari setelah tanam
- : tidak terbentuk

Pada Tabel 2 terlihat bahwa semua perlakuan kecuali kontrol dapat membentuk kalus dan akar tetapi tidak dapat terbentuk tunas. Tidak terbentuknya kalus dan akar pada kontrol disebabkan unsur-unsur hara yang terdapat dalam media MS belum mampu untuk menginduksi terbentuknya kalus dan akar. Selain itu zat pengatur tumbuh yang ditambahkan kedalam media untuk pertumbuhan tidak ada. Hal ini

didukung oleh pendapat Wattimena (1992) bahwa zat pengatur tumbuh adalah salah satu faktor yang penting diantara faktor lainnya yang dapat mempengaruhi pertumbuhan organ dari potongan jaringan yang ditanam baik jenis maupun konsentrasinya.

Dilihat dari reratanya kalus terbentuk pada minggu kedua pengkulturan yaitu antara 10,00 - 14,66 hari, namun pada perlakuan D, G dan J terbentuknya kalus lebih cepat yaitu 10 hari setelah pengkulturan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi 10 ppm NAA dan 0,1, dan 10 ppm BA telah mencapai keseimbangan yang tepat sehingga sel-sel terinduksi lebih cepat untuk melakukan pembelahan terus menerus dan dihasilkan kalus yang lebih besar dan banyak. Pada perlakuan H terbentuknya kalus terlama dan kalus yang dihasilkan kecil dan sedikit. Kalus tumbuh hanya pada bekas potongan eksplan terutama pada daerah ibu tulang daun. Lamanya waktu terbentuknya kalus diduga konsentrasi 0,1 ppm NAA tidak mampu mengimbangi konsentrasi 10 ppm BA. Wattimena (1992) menyatakan untuk pembentukan kalus dibutuhkan konsentrasi auksin tinggi (NAA) dengan konsentrasi sitokinin yang rendah (BA).

Dilihat dari reratanya pada perlakuan D, G dan J terbentuknya akar juga tercepat dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Cepatnya terbentuk kalus dipengaruhi oleh cepatnya terbentuknya kalus dan tingginya konsentrasi NAA (10 ppm). George dan Sherrington dalam Roseliza (1995) menyatakan bahwa NAA digunakan untuk menginduksi pembentukan akar dan mempunyai aktifitas dua kali aktifitas IAA. Pada perlakuan H terbentuknya akar juga paling lama dan akar yang terbentuk sangat kecil, pendek dan sedikit. Hal ini terjadi karena belum tercapainya keseimbangan antara pemberian 0,1 ppm NAA dan 10 ppm BA eksogen kedalam media sehingga kalus belum mampu berdiferensiasi membentuk akar. Pembentukan akar terlambat diduga kandungan BA yang tinggi.

Pada penelitian ini belum ditemukan konsentrasi NAA dan BA yang tepat untuk inisiasi tunas. Menurut Khrisnamoorthy dalam Roseliza (1995) mekanisme dasar yang mengatur organogenesis melibatkan auksin (NAA) dan

sitokinin (BA) sehingga menyebabkan terbentuknya kalus, akar dan tunas.

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa pemberian NAA dan BA tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah akar, hal ini kemungkinan disebabkan konsentrasi NAA dan BA belum seimbang untuk pembentukan akar. Hasil reratanya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Respon eksplan daun tanaman jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) secara *in vitro* akibat pemberian NAA dan BA terhadap jumlah akar

Perlakuan	Jumlah akar (buah)
A (Kontrol, tanpa NAA dan BA)	0,00
B (0,1 ppm NAA + 0,1 ppm BA)	1,33
C (1 ppm NAA + 0,1 ppm BA)	26,00
D (10 ppm NAA + 0,1 ppm BA)	5,00
E (0,1 ppm NAA + 1 ppm BA)	0,33
F (1 ppm NAA + 1 ppm BA)	13,33
G (10 ppm NAA + 1 ppm BA)	4,33
H (0,1 ppm NAA + 10 ppm BA)	0,66
I (1 ppm NAA + 10 ppm BA)	29,66
J (10 ppm NAA + 10 ppm BA)	15,66

Pada Tabel 3 terlihat bahwa jumlah akar yang terbanyak pada perlakuan I yaitu 29,66 buah. Pada perlakuan ini konsentrasi 10 ppm BA tidak mampu mengimbangi konsentrasi 1 ppm NAA yang mempunyai kemampuan dalam merangsang pembelahan sel dan diferensiasi terutama dalam pucuk tanaman dan pertumbuhan akar. Krishnamoorthy dalam Roseliza (1995) menyatakan bahwa pada umumnya perbandingan yang relatif tinggi antara auksin dan sitokinin akan mempengaruhi pembentukan akar.

Respon eksplan daun tanaman jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) terhadap bobot kalus menunjukkan hasil yang berpengaruh nyata. Hasil pengamatan terhadap rata-ratanya dapat dilihat pada Tabel 4.

Pada Tabel 4 terlihat bahwa rerata bobot kalus berkisar antara 0-0,25 gram. Bobot basah kalus tertinggi dijumpai pada perlakuan J yaitu 0,25 gram, hal ini disebabkan konsentrasi NAA dan BA yang diberikan mampu mendorong terbentuknya kalus lebih cepat dan diikuti pertumbuhan sel sehingga meningkatkan bobot basah kalus. Tingginya bobot kalus dapat

diindikasikan dari besarnya ukuran kalus yang dihasilkan

Tabel 4. Respon eksplan daun tanaman jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) secara in vitro akibat pemberian NAA dan BA terhadap bobot kalus

Perlakuan	Bobot basah kalus (Gram)
A (Kontrol, tanpa NAA dan BA)	0,000 a
B (0,1 ppm NAA + 0,1 ppm BA)	0,00016 a
C (1 ppm NAA + 0,1 ppm BA)	0,053 a
D (10 ppm NAA + 0,1 ppm BA)	0,12 b
E (0,1 ppm NAA + 1 ppm BA)	0,000 a
F (1 ppm NAA + 1 ppm BA)	0,053 a
G (10 ppm NAA + 1 ppm BA)	0,14 b
H (0,1 ppm NAA + 10 ppm BA)	0,00033 a
I (1 ppm NAA + 10 ppm BA)	0,0048 a
J (10 ppm NAA + 10 ppm BA)	0,25 c

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada masing-masing kolom adalah tidak berbeda nyata P(< 0,05)

KESIMPULAN

Pemberian NAA dan BA pada semua perlakuan dapat menghasilkan pertumbuhan eksplan daun yang baik (100%) dan pembentukan kalus serta akar tetapi belum menghasilkan tunas. Inisiasi kalus dan akar tercepat pada pemberian 10 ppm NA dengan 0,1, 1, 10 ppm BA yaitu 10,00 dan 14,66 hari setelah pengkulturan. Jumlah akar terbanyak pada pemberian 1 ppm NA dan 10 ppm BA yaitu 29,66 buah dan bobot basah kalus pada pemberian 10 ppm NA dan 10 ppm BA yaitu 0,25 gram.

DAFTAR PUSTAKA

Abidin, Z. 1995. *Dasar-Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Angkasa Bandung.
 Asmirda 1993. *Respon Pertumbuhan Potongan Jaringan Daun Jeruk Nipis(Cius aurantifolia Swingle) Pada Medium MS Dengan Penambahan 2,4 D NAA dan BA*. Tesis UNAND Padang.
 Gunawan, L.W. 1995. *Teknik Kultur Invitro Dalam Holtikultura*. Penebar Swadaya. Jakarta.
 Hendaryono, D.P.S & A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Kanisius. Yogyakarta.
 Jumini, H.B. 1997. *Perkembangan Baru Dalam Breeding Citrus Suatu Tinjauan Bioteknologi*. UIR Press. Pekanbaru.

Mariska, I, E. Gati & D. Sukmadjaya. 1987 *Kul Masa Tunas dan Tangkai daun Pada Tanam Geranium Secara In Vitro*. Pernbr. Littri. XIII (1-41-45.
 Prahardini, P.E.R & Sudaryono, T. 1992. *Pengaruh Kombinasi Asam Neftalen Asetat dan Benzyladen Terhadap Kultur Pepaya Kultivar Dampit Secara In Vitro*. J.Hort. 2(4) : 6-11
 Rosehiza, D. 1995. *Kultur padi (Oryza sativa.L) Rand Kuning pada Medium MS dengan Penambah 2,4.D, Kinetin, NAA dan BA*. Skripsi. UNAN Padang.
 Steel R.G.D dan Torrie J.H. 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistika Perguruan Tinggi*. Gramex Pustaka Utama. Jakarta.
 Suryowinoto, M. 1996. *Pemuliaan Tanaman Secara Vitro*. Kanisius. Yogyakarta.
 Wattimena, G. A. 1992 *Bioteknologi Tanaman* Departemen Pendidikan dan Kebudayaan II Bogor.