



OPTIMASI VARIASI ZAT PENGATUR TUMBUH NAA (NAPHTHALNENE ACETICACID) DAN BAP (BENZYLAMINOPURINE) PADA PEMBENTUKAN PLANTET TANAMAN JERUK SIAM (CITURS NOBILIS VAR. MICROCARPA) SECARA INVITRO

Intarti

Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga

intanaku11@gmail.com

Citation:

Intarti (2021). *Optimasi Variasi Zat Pengatur Tumbuh NAA (Naphthalene Aceticacid) dan BAP (Benzylaminopurine) pada Pembentukan Plantet Tanaman Jeruk Siam (Citurs Nobilis Var. Microcarpa) Secara Invitro*. *bjsme*, 1(1), 7-28.

Abstak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi optimum medium NAA (*Napthalene aceticacid*) dan BAP (*Benzylaminopurine*) yang perlu ditambahkan ke dalam medium kultur *in vitro* untuk penggandaan tunas dan akar dalam membentuk planlet jeruk siam (*Citrus nobillis*). Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan variasi NAA dan BAP pada medium dengan perbandingan 0,05:0,31 mg/L (N1B5), 0,14:0,18 mg/L (N3B3) dan 0,23: 0,06 mg/L (N5B1). Masing-masing perlakuan dilakukan dengan 5 kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa medium N5B1 merupakan medium yang paling optimal untuk penggandaan tunas (meliputi: jumlah tunas, jumlah daun dan panjang tunas) maupun penggandaan akar (meliputi: jumlah akar dan panjang akar). Media dengan proporsi N5B1, menghasilkan jumlah planlet jeruk siam (*C. nobillis*) paling banyak yaitu 5 buah. Hasil Viabilitas (kemampuan tumbuh) menunjukkan bahwa planlet jeruk siam (*C. nobillis*) mampu hidup di lingkungan luar dan tahan terhadap kontaminasi jamur dan bakteri.

Kata Kunci: *kultur in vitro, citrus nobilis, medium*

A. Pendahuluan

Tanaman jeruk merupakan tanaman tahunan yang berasal dari Asia, termasuk Indonesia yang tumbuh secara alami maupun budidaya. Jeruk memiliki berbagai manfaat, diantaranya sebagai makanan buah segar, maupun makanan olahan yang banyak mengandung vitamin C yang tinggi, juga sebagai sumber produksi minyak wangi. Seiring meningkatnya kesadaran masyarakat akan pentingnya mengkonsumsi buah-buahan segar, kebutuhan akan buah-buahan termasuk jeruk, juga semakin meningkat. Buah jeruk banyak tersedia di toko-toko buah dan pasar swalayan, namun sebagian besar merupakan

buah impor. Salah satu jenis jeruk yang dikembangkan di Indonesia adalah jeruk Siam (*Citrus nobillis*). Jeruk Siam memiliki penyebaran yang cukup luas di Indonesia. Tanaman ini berasal dari daerah Pontianak yang memiliki kualitas sangat bagus, aromanya harum dan rasanya manis. Perbanyakan tanaman jeruk Siam dapat dilakukan secara konvensional dan modern (*in vitro*). Perbanyakan tanaman jeruk Siam secara konvensional diantaranya perkembangan dengan biji, okulasi dan cangkok. Hasil yang diperoleh dari okulasi dan cangkok tidak memuaskan karena aroma dan rasa buahnya tidak sebaik buah pohon induknya. Perbanyakan dengan cangkok memiliki kualitas buah yang bagus seperti induknya, tetapi hasil perbanyakan dengan cangkok hanya dapat dilakukan dengan jumlah terbatas (Angkasa dan Fendi, 1993).

Perbanyakan grafting, stek pucuk, stek daun, stek batang dan perundukan merupakan pembiakan vegetatif yang memiliki sifat sama dengan induknya, tetapi perbanyakan dengan metode vegetatif memerlukan jumlah bibit yang banyak dan bebas patogen (Hartaman, 1987). Selain itu usaha perbanyakan tanaman jeruk Siam juga menemui berbagai kendala, diantaranya adalah jeruk Siam rentan terhadap hama dan penyakit. Serangan hama terbanyak umumnya berasal dari serangga sedangkan serangan penyakit umumnya berasal dari mikroorganisme parasit (bakteri, virus dan fungi). Salah satu penyakit yang paling mematikan adalah CVPD (*Citrus Vein Phloem degeneration*) (Rodinah, 1988). Penyakit CVPD merupakan penyakit yang penting bagi tanaman jeruk yang telah berkembang secara luas dan menjadi kendala utama dalam usaha pengembangan dan produksi tanaman jeruk di Bali (Wijaya, 2005).

Perbanyakan secara *in vitro* merupakan salah satu usaha yang dapat ditempuh untuk mendapatkan bibit jeruk Siam yang berkualitas yaitu pertumbuhan lebih cepat, menghasilkan jumlah bibit yang lebih banyak, homogen dan sama seperti induknya, bebas virus dan penyakit serta dapat tersedia secara kontinue (Nurhayati, 2004). Teknologi kultur jaringan merupakan perbanyakan tanaman secara *in vitro* yang menghasilkan tanaman bebas dari virus yaitu dengan cara mengkulturkan bagian meristem (Nurhakim, 2011). Keberhasilan dalam penggandaan tunas maupun penggandaan akar melalui kultur meristem sangat tergantung pada keseimbangan ZPT golongan auksin dan sitokinin. Diantaranya adalah keseimbangan antara konsentrasi BAP (Benzylaminopurine) dan NAA (Naphthalene aceticacid). BAP adalah zat pengatur tumbuh sintetis yang berperan antara lain dalam pembelahan sel dan morfogenesis sedangkan NAA adalah zat pengatur tumbuh (ZPT) sintetis yang mampu mengatur berbagai proses pertumbuhan dan pemanjangan sel (Suyadi, dkk, 2003).

Penelitian ini diharapkan dapat mempermudah perbanyakan bibit dan pengembangan konservasi plasma nutfah tanaman jeruk Siam yang dilakukan secara *in vitro*, karena bibit yang dihasilkan dari kultur *in vitro* lebih banyak, homogen, sama dengan induknya serta bebas hama serta penyakit. Sehingga memberikan kemudahan bagi petani jeruk untuk membudidayakan tanaman jeruk dan meningkatkan produksi jeruk lokal khususnya jeruk Siam yang unggul dan memiliki nilai ekonomi yang tinggi

B. Tinjauan Pustaka

Jeruk Siam (*Citrus nobillis* var. *microcarpa*) merupakan buah jeruk yang paling populer di Indonesia dan banyak dikembangkan sebagai buah segar, karena rasanya yang

manis dan menyegarkan. Sehingga jeruk Siam banyak ditanam oleh petani dan paling luas penyebarannya (Rais, 1994).

Secara konvensional, jeruk Siam merupakan tanaman budidaya yang sedikit sulit dikembangkan. Adapun permasalahan budidaya jeruk Siam diantaranya terkait dengan syarat tumbuh, media tanam, ketinggian tempat dan pembibitan. Syarat tumbuh jeruk Siam antara lain mencakup kisaran kecepatan angin yang kurang dari 40-48%, temperatur optimum 25-30° C dan memerlukan 9 bulan basa (musim hujan) untuk perkembangan bunga serta buah. Media tanaman yang baik untuk jeruk Siam adalah tanah lempung atau lempung berpasir dengan fraksi liat 7-27%, debu 25-50%, pasir < 50% cukup humus tata air dan udara baik, derajat keasaman tanah 5,5-6,5 dengan pH optimum 6 serta air tanah yang optimal berada pada kedalaman 150-200 cm, memiliki kemiringan sekitar 300 C (Sutopo dkk, 1994).

Permasalahan selanjutnya adalah adanya penyakit pada tanaman jeruk Siam. Tanaman ini rentan terhadap serangan hama dan penyakit. Serangan hama terbanyak umumnya berasal dari serangga seperti kutu loncat, kutu daun, ulat peliang daun, tungau, pengerek buah, kutu pengisap daun, ulat pengerek bungan, lalat buah, kutu sisik dan kumbang belalai. Penyakit umumnya berasal dari mikroorganisme parasit (bakteri, virus, fungi), salah satu penyakit yang paling mematikan adalah CVPD (Nurhakim, 2011).

Perbanyakan tanaman secara *in vitro* juga disebut budidaya jaringan, yaitu suatu budidaya serba steril, memakai media steril, bahan yang steril dan tentunya alat-alat yang steril juga (Katuuk, 1989). Dasar teori yang dipakai yaitu teori totipotensi. Teori ini menjelaskan kemampuan suatu sel untuk berdiferensiasi menjadi tanaman yang utuh apabila dibudidayakan dalam medium yang sesuai. Artinya dapat tumbuh, bereproduksi dan berkembang biak secara normal (Suryowinoto, 1989).

Perbanyakan tanaman secara *in vitro* dapat ditempuh melalui dua jalur proses regenerasi yaitu organogenesis dan embriogenesis. Jalur organogenesis merupakan jalur pembentukan organ tunas atau akar sementara jalur embriogenesis merupakan jalur pembentukan sel-sel embrionik. Jalur organogenesis tergantung pada tiga hal yaitu inokulasi, media dan lingkungan (Thorpe 1981 dan Katuuk, 1989). Derajat organogenesis sangat tergantung pada perbandingan antara sitokinin dan auksin. Apabila dalam media jumlah auksin lebih tinggi dari pada sitokinin, maka akar akan terbentuk terlebih dahulu sebaliknya apabila jumlah sitokinin lebih tinggi dibanding auksin maka tunas akan terbentuk terlebih dahulu.

Alitalia (2008) melakukan penelitian pada tanaman Kantong Semar (*Nepenthes mirabilis*), bahwa tanpa pemberian NAA terbukti menghasilkan jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar terbanyak, sedangkan interaksi BAP 1 ppm dan NAA 0.5 ppm terbukti mampu menghasilkan tunas terbanyak (1.6 tunas per eksplan). Sitokinin berpengaruh dalam pertumbuhan dan perkembangan tunas, pertumbuhan tunas dapat dilakukan melalui perangsangan tunas aksilar dalam jumlah yang melebihi pertumbuhan normal dan inisiasi tunas adventif, baik langsung dari organ maupun dari jaringan kalus melalui kultur *in vitro* (Gunawan, 1998).

Pada perangsangan tunas aksilar, titik tumbuh lateral dirangsang untuk membentuk tunas aksilar sedangkan meristem apikal dihambat. Pertumbuhan melalui tunas aksilar akan menghasilkan peningkatan yang eksponensial serta tingginya penggandaan tunas. Pembentukan tunas aksilar merupakan metode yang penting dalam

perbanyak tanaman secara *in vitro*. Hal ini dikarenakan stabilitas genetik pada tunas aksilar dapat dipertahankan serta pertumbuhan tanaman yang dihasilkan sangat baik (Suyadi dkk, 2003). Inisiasi selanjutnya dari pertumbuhan tunas aksilar adalah pembentukan tunas adventif. Pembentukan tunas adventif dapat dilakukan secara langsung atau secara tidak langsung pada eksplan, pembentukan tunas secara tidak langsung yaitu melalui fase kalus. Kalus dapat tumbuh pada permukaan yang dilukai, inisiasi dimulai dari sel-sel parenkim yang terdapat didalam epidermis atau bawah permukaan epidermis yang menjadi sel meristematis yang selanjutnya akan berkembang atau berdiferensiasi menjadi primodial tunas (Hartman dan Kaster, 1987).

Eksplan dan hormon merupakan dua hal penting dalam pembentukan tunas adventif. Bagian eksplan yang dapat digunakan adalah potongan daun, pucuk ranting, kotiledon, hipokotil dan bagian lain dari kecambah serta bagian dari bunga (Sukanto, 2010). Pemberian zat pengatur tumbuh eksogen sering diperlukan untuk menginduksi tunas. Kombinasi auksin dan sitokinin dibutuhkan untuk pertumbuhan adventif, tetapi kadar sitokinin yang jauh lebih tinggi dibandingkan auksin akan menginisiasi tunas lebih baik. Sebaliknya penggunaan auksin tunggal atau dengan sitokinin yang memiliki konsentrasi sangat rendah akan menginisiasikan primodial akar (Evans dkk 1981). Marlin (2005) melaporkan bahwa pemberian BAP dan NAA mempengaruhi regenerasi planlet jahe gajah secara *in vitro* dengan persentase pembentukan tunas, akar dan planlet sebesar 83,33-100%. Komposisi media untuk regenerasi tunas jeruk Citromelo yang cocok adalah MT + 0,5 mg/L BAP + 0,2 mg/L NAA + 40 mg/L adenine sulfat + 30 g/L gula pasir (Triatminingsih dkk, 2004).

Tahapan penting dalam kultur *in vitro* lainnya adalah aklimatisasi. Pada tahapan ini dilakukan kegiatan perlakuan adaptasi klimatis dari suatu organisme hidup yang dipindahkan ke lingkungan baru sebagai upaya penyesuaian dan perubahan planlet dari yang terkontrol (aseptis dan heterotrof) ke dalam kondisi lingkungan yang terkendali (Torees, 1989). Proses ini bertujuan agar tanaman dapat beradaptasi sebelum berada pada lingkungan luar (Wetherell, 1982)

C. Metode Penelitian

Tabel 1. Data Pengamatan untuk Ral Terdiri dari Perlakuan dan Ulangan

Ulangan	Medium			
	Kontrol	NAA: BAP (mg/L)		
		0,05:0,31 1:5	0,14:0,18 3:3	0,23:0,06 5:1
1	K1	N1B5	N3B3	N5B1
2	K2	N1B5	N3B3	N5B1
3	K3	N1B5	N3B3	N5B1
4	K4	N1B5	N3B3	N5B1
5	K5	N1B5	N3B3	N5B5

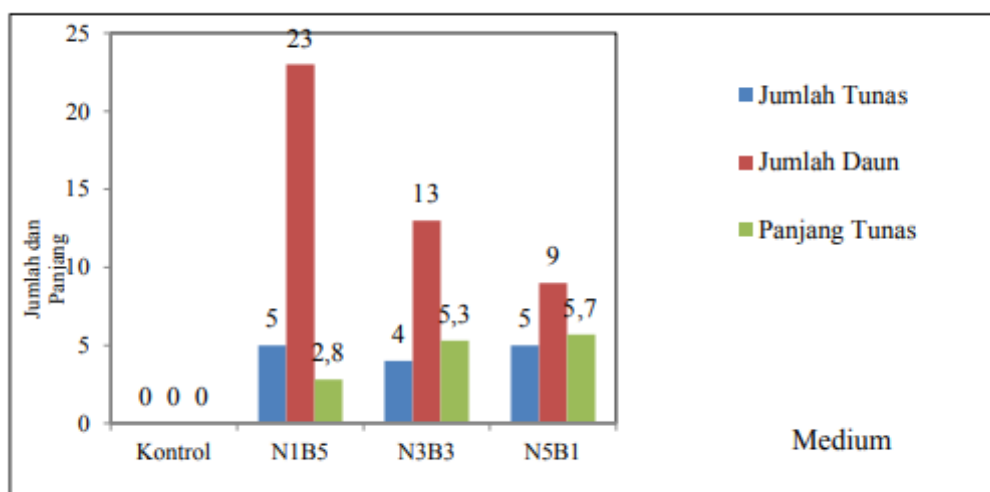
Eksplan yang digunakan diambil dari kalus epikotil tanaman jeruk Siam (*Citrus nobillis*). Penelitian dilakukan menggunakan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kali ulangan. Masing-masing ulangan diberi perlakuan dengan variasi zat pengatur

tumbuh NAA dan BAP yaitu 0,05:0,31(N1B5) mg/L, 0,14:0,18 mg/L (N3B3) dan 0,23: 0,06 mg/L (N5B1).

D. Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa respon pembentukan planlet jeruk Siam (*Citrus nobillis*) selama 4 bulan yang ditanam pada medium MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh NAA (*Napthalene aceticacid*) dan BAP (*Benzylaminopurine*).

Hasil pengamatan data penggandaan tunas pada respon pertumbuhan planlet jeruk Siam pada medium N1B5, N3B3 dan N5B1, disajikan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Hasil pengamatan rerata jumlah tunas, jumlah daun, dan panjang tunas, jeruk Siam (*C. nobillis*) umur 4 bulan.

Dari Gambar 1 dapat diketahui semua kombinasi perlakuan sebagian besar menghasilkan respon pertumbuhan tunas respon terendah ditunjukkan pada medium N3B3 (4 buah tunas). Medium N1B5 juga menunjukkan respon terbaik pada pembentukan jumlah daun dengan rerata tertinggi (23 helai) dan diikuti dengan medium yang mengalami peningkatan NAA yaitu N3B3 (13 helai) dan N5B1 (9 helai). Respon pemanjangan tunas berbanding terbalik dengan jumlah tunas dan jumlah daun. Medium N5B1 yang komposisi NAA nya tinggi menghasilkan rerata panjang tunas terbaik (5,7 cm) dan diikuti dengan medium N3B3 (5,3 cm) dan N1B5 (5 cm).

Tabel 2 menunjukkan bahwa rerata jumlah tunas terbaik diperoleh pada perbandingan medium N1B5 dan N5B1 (1 buah tunas) dan rerata terendah pada medium N3B3 (0,8 buah tunas), sedangkan kontrol tidak mengalami respon pertumbuhan. Rerata jumlah tunas mengalami peningkatan dari kelompok kontrol sampai kelompok perlakuan. Hasil analisis varian (ANOVA) menunjukkan bahwa nilai $F_{hit} > F_{tab}$ ($22,66 > 8,68$) pada tingkat kepercayaan (α) 5%. Hal ini berarti terdapat perbedaan yang nyata/signifikan pada pembentukan jumlah tunas pada semua perlakuan. Rerata jumlah daun dan rerata panjang tunas tidak signifikan antar perlakuan. Nilai $F_{hit} < F_{tab}$ ($8,032 < 8,69$) untuk jumlah daun dan nilai $F_{hit} > F_{tab}$ ($5,004 > 8,69$) untuk panjang tunas. Walaupun hasil analisis variansi menunjukkan tidak signifikan, tetapi pada beberapa medium seperti N1B5

terdapat nilai tertinggi untuk rerata jumlah daun (4,4 helai) dan medium N5B1 menunjukkan rerata tertinggi untuk panjang tunas (1,14 cm).

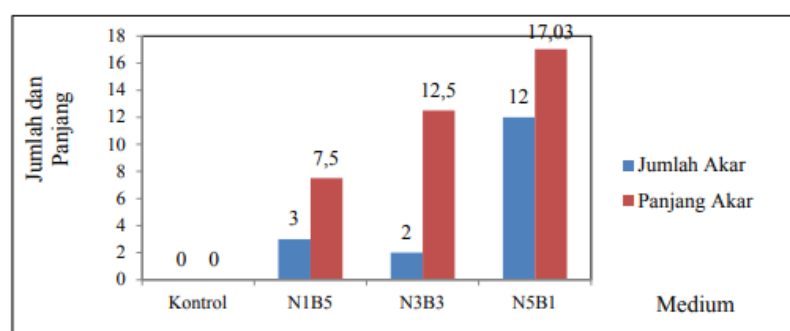
Hasil pengamatan analisis varian (ANOVA) pada penggandaan tunas jeruk Siam dengan konsentrasi ZPT N1B5, N3B3 dan N5B1 disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata jumlah tunas , jumlah daun dan panjang tunas pada berbagai konsentrasi NAA:BAP Jeruk Siam (*C. nobillis*)

Medium mg/L	Rerata Jumlah tunas	Rerata jumlah daun	Rerata panjang tunas
Kontrol	0 ^a	0	0
N1B5 (0,05:0,31 mg/L)	1 ^b	4,4	0,65
N3B3 (0,14:0,18 mg/L)	0,8 ^a	2,6	1,06
N5B1 (0,23:0,06 mg/L)	1 ^b	1,8	1,14

Keterangan: Angka rata-rata diikuti huruf sama dalam kolom yang sama, tidak berbeda nyata berdasarkan uji LSD taraf 5%.

Hasil pengamatan data penggandaan akar pada respon pertumbuhan planlet jeruk Siam pada medium N1B5, N3B3 dan N5B1 disajikan dalam Gambar 2.



Gambar 2. Hasil pengamatan rerata jumlah akar dan panjang akar Jeruk Siam (*C. nobillis*) umur 4 bulan.

Gambar 2 merupakan hasil rerata jumlah akar dan panjang akar. Rerata jumlah akar terbanyak ditunjukkan pada medium yang memiliki konsentrasi NAA yang tinggi yaitu N5B1 (12 buah), diteruskan dengan medium yang mengalami penurunan NAA dan peningkatan BAP. NAA yang konsentrasinya tinggi juga mampu menghasilkan pemanjangan tunas terbaik, ditunjukkan pada medium yang sama yaitu N5B1 (17,3 cm) dan diikuti dengan medium lainnya.

Hasil pengamatan analisis varian (ANOVA) pada penggandaan akar jeruk Siam pada medium N1B5, N3B3 dan N5B1 disajikan pada Tabel 3.

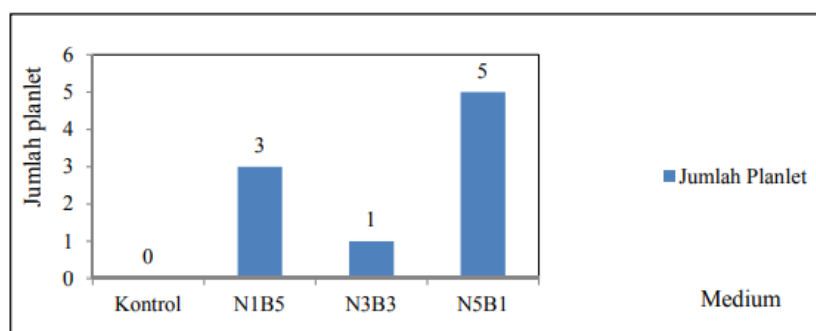
Berdasarkan analisis varian (ANOVA) dan dilanjutkan uji (LSD) pada Tabel 3 diperoleh bahwa pada rerata jumlah akar terdapat beda nyata, yaitu $F_{hit} > F_{tab}$ ($13,333 > 8,69$). Pertumbuhan akar yang paling baik ditunjukkan pada media N5B1. Rerata panjang akar tidak terjadi beda nyata pada setiap perlakuan dengan $F_{hit} < F_{tab}$ ($1,06 < 8,69$). Meskipun tidak terjadi beda nyata terhadap panjang akar tetapi secara nyata tampak bahwa pada medium N5B1, nilai rerata panjang akar paling baik yaitu 6,68 cm, dilanjutkan dengan medium N3B3 yaitu 2,4 cm dan N1B5 1,5 cm.

Tabel 3. Hasil Analisis ANOVA Penggandaan Akar Jeruk Siam

Medium (mg/L)	Rata-rata jumlah akar	Rata-rata panjang akar	Jumlah planlet
Kontrol	0 ^a	0	0
N1B5	0,6 ^a	1,5	3
N3B3	0,2 ^a	2,4	1
N5B1	2,4 ^b	6,68	5

Keterangan: Angka rata-rata diikuti huruf sama dalam kolom yang sama, tidak berbeda nyata berdasarkan uji LDS taraf 5%.

Jumlah planlet yang terbentuk pada medium N1B5, N3B3 dan N5B1 ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Jumlah planlet Jeruk Siam (*C. nobillis*) umur 4 bulan.

Pada pengamatan secara kualitatif, selama 4 bulan inkubasi tidak terjadi perubahan warna baik pada eksplan maupun pada planlet yang terbentuk. Dari hasil penggandaan tunas dan penggandaan akar pada jeruk Siam medium N5B1 yang paling optimal untuk pembentukan planlet karena menghasilkan jumlah planlet terbanyak yaitu 5 buah. Dilihat dari morfologinya, pertumbuhan planlet paling baik adalah pada medium N1B5. Dengan demikian, medium paling baik untuk pembentukan planlet jeruk Siam adalah medium N1B5.

Hasil pengamatan data viabilitas (kemampuan tumbuh) jeruk Siam (*Citrus nobillis*) pada medium N1B5, N3B3 dan N5B1 disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil pengamatan viabilitas jeruk Siam pada proses aklimatisasi selama satu minggu.

Perlakuan (mg/L)	Jumlah Planlet	Hardening		Aklimatisasi		Keterangan
		Hidup	Mati	Hidup	Mati	
N1B5	3	-	-	-	-	Hidup Mati akibat kontaminasi jamur
N3B3	1	1	-	1	-	Mati akibat kontaminasi jamur
N5B1	5	-	-	3	-	Mati akibat kontaminasi jamur

Tabel 4 menunjukkan bahwa ketiga planlet pada medium N1B5 mampu bertahan pada lingkungan luar. Akan tetapi, bentuk daun dan batangnya menguning serta mengalami kelayuan. Pada medium N3B3, planlet mati akibat kontaminasi jamur, dengan

ciri-ciri planlet kering dan mati. Pada medium N5B1, dari lima planlet terdapat tiga planlet yang mati akibat kontaminasi jamur, sedangkan dua planlet dapat bertahan hidup.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat interaksi antara pemberian NAA dan BAP yang memberikan pengaruh nyata terhadap induksi tunas dan induksi akar. Pada hasil pengamatan, konsentrasi NAA lebih rendah dan BAP tinggi menunjukkan hasil paling baik dalam penggandaan tunas jeruk Siam. Medium dengan konsentrasi sitokinin (BAP) tinggi, yaitu N1B5, menghasilkan rerata jumlah tunas terbanyak. Hasil ini sesuai dengan pendapat Wattimena (1992) bahwa sitokinin berperan dalam memacu pertumbuhan dan perkembangan tanaman, khususnya untuk menginduksi tunas adventif. Selain itu, peningkatan pemberian kadar BAP ke dalam media kultur juga telah mempercepat pertumbuhan tunas jahe (Marlin, 2005). Berdasarkan hasil pengamatan, pemberian BAP dalam konsentrasi tinggi mampu menghasilkan tunas per kalus. Jumlah tunas mikro yang dihasilkan per kalus pada perlakuan N1B5 adalah satu. Hal ini berarti bahwa jumlah maksimal tunas mikro yang dihasilkan sesuai dengan nilai rerata ekplan kalus yang bertunas. Artinya, eksplan kalus yang nilai rerata pembentukan tunasnya tinggi juga menghasilkan tunas paling banyak.

Komposisi sitokinin tinggi juga sangat berpengaruh pada pembentukan jumlah daun. Pada medium N1B5, tanaman memiliki rerata jumlah daun paling besar. Peningkatan jumlah daun disebabkan oleh peningkatan jumlah tunas. BAP merupakan senyawa sintetik dari hormon sitokinin organik yang berfungsi sebagai pembelahan sel (sitokinesis), sehingga konsentrasi sitokinin yang tinggi mampu menginduksi tunas.

Jumlah tunas dan jumlah daun korelasi negatif dengan panjang tunas. Tunas lebih pendek sejalan dengan peningkatan jumlah daun, demikian juga sebaliknya. Hal ini diduga karena adanya pemenuhan nutrisi dan ruang tumbuh yang menyebabkan persaingan memperoleh nutrisi untuk pertumbuhan selanjutnya (Suyadi dkk, 2003). Penurunan panjang tunas pada medium yang kadar komposisi BAP tinggi juga dapat disebabkan oleh adanya hormon endogen. Sitokinin endogen yang terdapat didalam tanaman salah satunya adalah zeatin atau zip (*2-isopentyl adenine*) (Franklin dkk, 2008). Senyawa ini di dalam tanaman juga dapat menghambat pemanjangan tunas sehingga konsentrasi BAP tinggi menghambat pemanjangan tunas.

Pada hasil pengamatan penggandaan tunas, terlihat bahwa pada setiap ulangan medium mengalami respon pertumbuhan tunas yang hampir sama yaitu 1 tunas. Sedangkan kontrol tidak terjadi respon pertumbuhan sama sekali. Medium kontrol tidak ditambahkan zat pengatur tumbuh (ZPT) ke dalam medium sehingga kalus tidak dapat berkembang membentuk organ. Hal ini dimungkinkan karena hormon endogen auksin dan sitokinin yang terdapat pada kalus tidak mencukupi untuk melakukan perkembangan selanjutnya. Penambahan kombinasi konsentrasi sitokinin auksin yang sesuai penting dalam pembentukan tunas dan daun (Rainiyati, 2010). Jumlah tunas sangat menentukan tingkat efisiensi pembibitan (Bety, 2004) karena jumlah tunas yang banyak akan menghasilkan planlet/ tanaman yang banyak pula.

Selain pengamatan penggandaan tunas juga dilakukan pengamatan penggandaan akar. Peningkatan BAP pada medium terbukti dapat menghambat penggandaan akar. Hal ini terbukti pada medium N1B5 yang konsentrasi BAP nya tinggi menghasilkan jumlah akar dan panjang akar yang kecil. Faktor utama yang menyebabkan peningkatan jumlah akar

dan panjang akar adalah peningkatan kadar konsentrasi NAA yang tinggi. Pada medium yang kadar konsentrasi BAP tinggi terjadi hambatan penggandaan akar.

Pengaruh interaksi pada penggandaan tunas antara perlakuan NAA dengan BAP seimbang menghasilkan nilai rerata lebih kecil pada jumlah daun dan panjang tunas, tetapi untuk jumlah tunas memiliki nilai terkecil bila dibandingkan medium yang lain. Hal ini dapat disebabkan pemberian konsentrasi auksin dan sitokinin yang cenderung seimbang akan menekan laju pertumbuhan tunas (Suyadi dkk, 2003). Sementara itu, penggandaan akar pada medium N3B3 nilai rerata jumlah akar yaitu hanya 0,2 buah. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi yang seimbang antara BAP dan NAA dapat menyebabkan penghambatan respon pertumbuhan jumlah akar. Penghambatan ini juga tidak terlepas dari hormon endogen yang bersifat sub optimal. Sementara itu nilai rerata panjang akar pada medium N3B3 lebih tinggi bila dibandingkan medium N1B5 yang kadar auksinnya rendah. Hal ini dapat dimungkinkan karena pada medium yang kadar auksin seimbang dengan sitokinin masih mampu merespon pemanjangan akar dengan baik.

Pengamatan pada penggandaan akar interaksi antara NAA dan BAP pada penggandaan akar jeruk Siam berbanding terbalik dengan pengamatan penggandaan tunas. Medium N5B1 yang mengandung konsentrasi auksin yang lebih tinggi menghasilkan jumlah akar paling banyak sedangkan medium N1B5 yang memiliki konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi menghasilkan jumlah akar lebih sedikit. Faktor utama yang menyebabkan peningkatan jumlah akar adalah peningkatan jumlah auksin (Katuuk, 1989). Hormon alami dari tumbuhan (IAA). Hormon ini diproduksi dalam jaringan meristematik yang aktif, yaitu tunas, daun muda dan buah. Transport auksin secara basipetal yaitu dari ujung ke basal (Franklin dkk, 2008). Penggunaan auksin tunggal atau dengan sitokinin rendah akan menginisiasi primordia akar menurut (Evans dkk, 1981). Efek fisiologis dari NAA adalah kemampuan untuk pemanjangan sel. Perpanjangan ini disebabkan oleh NAA mengubah sifat osmotik dari vakuola, meningkatkan pembelahan sel terhadap air, menyebabkan pengurangan tekanan pada dinding sel, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan plastisitas dan pengembangan dinding sel serta dapat mendorong pertumbuhan primordia akar (Mudyantini, 1997).

Riyadi dan Tahardi (2005) mengatakan bahwa perlakuan NAA tunggal dengan konsentrasi 1,0 mg/L menghasilkan jumlah rata-rata perakaran terbanyak pada tanaman kina. NAA banyak digunakan sebagai hormon akar karena memiliki sifat kimia lebih stabil dibandingkan IAA dan tidak mudah teroksidasi oleh enzim. Penelitian Maryani dan Zamroni (2005) pada penggandaan Krisan secara *in vitro* menunjukkan bahwa perlakuan tanpa BAP menghasilkan jumlah akar lebih banyak dibandingkan adanya penambahan BAP. Kecenderungan penambahan konsentrasi BAP menurunkan jumlah akar. Kadaan ini membuktikan bahwa BAP mampu menekan pertumbuhan akar.

Teknik perbanyak tanaman secara *in vitro* tidak terlepas dari salah satu tahapan penting yaitu teknik aklimatisasi. Planlet yang terbentuk dari jeruk Siam diuji viabilitasnya (kemampuan tumbuh) melalui proses aklimatisasi. *Hardening* merupakan salah satu tahapan utama dalam aklimatisasi. *Hardening* merupakan proses penyesuaian awal planlet dengan suhu lingkungan luar laboratorium supaya planlet mampu bertahan hidup dan tidak mengalami stress. *Hardening* dilakukan dengan meletakkan botol kultur dalam kondisi tertutup rapat di tempat yang teduh tetapi masih menerima cahaya matahari. Hal ini bertujuan untuk merangsang penguatan dinding sel planlet hasil kultur jaringan.

Cahaya matahari berperan dalam proses fotosintesis yang menghasilkan metabolit primer (energi) yang dipakai untuk metabolisme tanaman sehingga terjadi pertumbuhan dan perkembangan (Frank dkk, 1995). Di samping itu, metabolit primer digunakan untuk menyusun metabolit sekunder yang mendukung pada proses adaptasi dan proteksi tanaman. Cahaya matahari juga berperan sebagai penghambat kerja hormon auksin. Hormon auksin di dalam planlet akan dihambat oleh cahaya matahari yang mengakibatkan penghambatan pada permanjangan sel sehingga terjadi penguatan dinding sel pada planlet (Fahn, 1995).

Proses aklimatisasi dilanjutkan dengan memindahkan planlet dari botol kultur ke media tanam, biasanya berupa kompos. Pada tahapan ini sebaiknya digunakan media tanam yang halus dan lunak sehingga proses perakaran bibit lebih optimal. Pemberian tutup pada proses aklimatisasi sendiri bertujuan untuk menjaga kelembaban dalam ruangan medium (Rohayati, 2009).

Dari hasil pengamatan *hardening* terlihat bahwa pada semua perlakuan, planlet dapat beradaptasi langsung pada lingkungan luar. Terdapat satu planlet yang terkontaminasi jamur, tetapi planlet tetap bertahan hidup. Morfologi dari semua perlakuan untuk warna daun dan batang tidak terjadi perubahan (tetap hijau).

Hasil pengamatan terhadap viabilitas (kemampuan tumbuh) planlet menunjukkan bahwa pada medium N5B1 planlet mampu bertahan hidup dari kontaminan jamur. Hal-hal yang dapat mengakibatkan proses aklimatisasi tidak berhasil diantaranya adalah tanaman terpapar sinar matahari berlebihan pada proses *hardening* atau aklimatisasi yang mengakibatkan kematian pada planlet karena tanaman gosong. Selain itu juga ketahanan tanaman yang kurang baik sehingga mengakibatkan kelayu pada saat *hardening*. Kelayuan ini dapat disebabkan dari adaptasi tanaman yang kurang baik. kelembaban yang tinggi mengakibatkan kekurangan oksigen pada planlet sehingga terjadi hiperhidrasitas, hal ini akibat pemberian air dan penyinaran yang berlebihan sehingga mengakibatkan pertumbuhan tanaman dapat terhambat (Rohayati, 2009).

Selain itu, kontaminasi jamur atau bakteri juga mengakibatkan kematian planlet pada saat proses aklimatisasi. Hal ini dapat disebabkan medium tanah atau medium agar yang digunakan kurang steril. Pemberian fungisida merupakan salah satu solusi untuk mengurai kontaminasi. Selain hal diatas, waktu *hardening* yang terlalu lama juga dapat mengakibatkan kelayuan pada planlet, sebaliknya waktu *hardening* yang kurang mengakibatkan kekuatan planlet belum maksimal untuk dipindahkan ke media tanah. Selanjutnya kondisi media tanah yang digunakan harus baik, setruktur tanah tidak keras dan komposisi nutrisi stabil.

E. Kesimpulan

Jenis-jenis tumbuhan anggota famili leguminosae yang ditemukan di Hutan Kayu Putih kecamatan imogiri terdiri dari subfamili Papilionaceae, Caesalpiniaceae dan Mimosaceae. Jenis subfamili Papilionaceae antara lain, *Desmodium triflorum*, *Desmodium styracifolium*, *Flemingia sp.*, *Centrocema pubescens*, *Callopogonium sp.* dan *Gliricidia sepium*. Jenis subfamili Caesalpiniaceae antara lain secang (*Caesalpinia sappan*) dan *Calliandra haematocephala*, Jenis subfamili Mimosaceae antara lain *Mimosa invisa*, *Mimosa pudica*, *Aesinomene indica*, Lamtara (*Leucaena glauca*), Sonokeling (*Dalbergia latifolia*) dan johar (*Cassia siamea*).

Referensi

- Alitalia, Y. 2008. *Pengaruh Pemberian BAP dan NAA Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan tunas Mikro kantong Semar (Nepenthes mirabilis) secara In Vitro*. Skripsi. Program Studi Hortikultura. Fakultas Pertanian IPB
- Angkasa, S. dan Fendy. 1993. *Kepron Grabag yang Langka dari Merbabu*. Trubus 24 (288): 74.
- Bety, Y. A. 2004. *Media Sapi Alternatif Untuk Planlet Anggrek Vanda*. Kebun Percobaan Pasar Minggu, Balai Penelitian Tanaman Hias. Jakarta Selatan. Hort. Vol. 14 No. 1.
- Evans, D. A. Sharp, W. R. dan Flick, C. E. 1981. Growth and Behavior of Cell Culture. In : Thorpe, T. A. (ed). *Plant Tissue Culture. Methods and Applications in Agriculture*. pp 45-113. Academic Press inc. New York.
- Franklin, P. Gardner, R. Brent, P. R. L. dan Mitchell. 2008. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Penerbit UI Press.
- Gunawan, L. W. 1998. *Teknik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan PAU Bioteknologi IPB. Bogor. Hal : 252.
- Hartaman, H. T. dan E.K. Dele. 1978. *Plant propagation Principles and Practices, 3rd Edition*. Prentice Hall of India Private Ltd. New Delhi, Hal : 215.
- Katuuk, J. R. P. 1989. Teknik Kultur Jaringan Dalam Mikropropagasi Tanaman. Departemen P dan K. Jakarta, pp. 46-56, 73-76, 90-92.
- Marlin. 2005. Regenerasi In Vitro Planlet Jahe Bebas Penyakit Layu Bakteri pada Beberapa Tahap Konsentrasi BAP dan NAA. *Jurnal ilmu-ilmu Pertanian Indonesia*. 7: 8-14.
- Nurhakim, 2011. *Jeruk Siam dan Penyakit Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD)*. Skripsi. Dunia Tanam.
- Nurhayati. 2004. Variasi Konsentrasi BAP dan IAA pada Perbanyakan Jeruk Keprok Mangga (*Citrus nobiles* L. Var. *Chrysocarpa*) secara in Vitro. *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian*. Vol 2. No 1. April 2004: 8-12.
- Rais. 1994. *Kajian Elastisitas permintaan Masukan dan Penawaran Hasil Usaha Tani Jeruk Siam di Jawa Timur*. Panel. Hort. Vol. 6 No. 2, 1994.
- Rainiyati. 2010. *Pertumbuhan Nodul Pisang (Musa ABB Raja Nangka) Secara In Vitro*. Fakultas Pertanian Universitas Jambi. Percikan: Vol. 112 Edisi Mei 2010. ISSN : 0854-8986.
- Rohayati, E. dan Marlina, N. 2009. Teknik Aklimatisasi Planlet Anyelir (*Dianthus caryophyllus* L.) untuk Tanaman Induk. *Buletin Teknik Pertanian*. Vol 14. No. 2, 2009 : 72-75.
- Rodinah. 1988. *Budidaya Beberapa Jenis Jeruk (Citrus spp)*. Tesis pada Fakultas Pasca Sarjana UGM Yogyakarta.
- Sukanto, L. A. 2010. *Morfologi Berbagai Eksplan Kawisata (Limonia acidissima L) yang Ditumbuhkan secara Kultur Jaringan*. Prosiding Seminar Biologi Menuju Milenium. Fakultas Biologi UGM-LIPI.
- Suryowinoto, M. 1989. *Fusi Protoplas*. PAU UGM Yogyakarta, pp. 232
- Sutopo dan Djoemajah. I. 1994. *Kesesuaian Lahan Untuk Tanaman Jeruk Keprok Tejakula Di Provinsi Bali*. Panel. Hort. Vol. 6. No. 1, 1994.
- Suyadi, A. Purwanto, A. dan Trisnowati, S. 2003. Penggandaan Tunas Abaca Melalui Kultur Meristem. *Ilmu Pertanian*. Vol. 10. No. 2, 2003 : 11- 16.
- Thorpe, A. T. 1981. *Plant Tissue Culture. Methods Applications in Agriculture*. Academic Press Publisher. New York.

Optimasi Variasi Zat Pengatur Tumbuh NAA (Naphthalene Aceticacid) dan BAP (Benzylaminopurine) pada Pembentukan Plantet Tanaman Jeruk Siam (*Citrus Nobilis* Var. *Microcarpa*) Secara Invitro

- Torees, K. C. 1989. *Tissue cultur Tech niques for Horticultural crop*. Chapman and Hal. New York
- Wattimenna, G. A. 1992. *Sitokinin Bioteknologi Tanaman*. Bandung. Pusat Antara Universitas Institut Pertanian Bogor. Hal : 66-67.
- Wetherrel, E. D. F. 1982. *Introduction to in vitro Propagation*. Averi Publishing Groupinc. Weyne. New York.
- Wijaya, I. 2007. Penularan Penyakit CUPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) oleh *Diaphorina Citri* Kuwayama (Homoptera : Psyllidae) Pada Tanaman Jeruk Siam. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*. Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Denpasar-Bali. 26: 140-146.