

PERTUMBUHAN NUSELUS JERUK KACANG (*Citrus nobilis* L.) PADA BEBERAPA KONSENTRASI NAA DAN BAP

(Growth of nucelus of kacang orange (*Citrus nobilis* L.) on several NAA and BAP concentrations)

Wati Hatimah^{*}

ABSTRACT.

The experiment on nucelus of kacang orange (*Citrus nobilis* L.) growth on several NAA and BAP concentrations was conducted at tissue culture Laboratory of the Faculty of Agriculture Andalas University Padang from July to October 1995. The objective of this investigation is to study the interaction of NAA and BAP concentrations on nucelus of kacang orange growth. The experiment was arranged in Completely Randomized Design in factorial with two factors and three replications. The first factor (A) was NAA concentration with four level 0, 0.2, 0.4, and 0.6 ppm and the second factor (B) was BAP concentration with four levels 0, 0.2, 0.4, and 0.6 ppm. The result showed that there was no significant interaction between NAA and BAP on nucelus of kacang orange growth. The concentration of 0.2 ppm BAP was the best for nucelus of kacang orange growth.

PENDAHULUAN

Jeruk merupakan salah satu komoditi buah-buahan penting di Indonesia. Disamping sebagai sumber vitamin dan mineral, jeruk juga mempunyai nilai ekonomis yang cukup tinggi baik dalam bentuk segar maupun olahannya. Jeruk banyak digemari oleh masyarakat sehingga kebutuhan akan jeruk selalu meningkat.

Jeruk kacang merupakan salah satu jenis jeruk keprok yang berasal dari Sumatera Barat yang mempunyai potensi untuk dikembangkan, rasanya manis segar, berukuran cukup besar serta dapat hidup puluhan tahun. Tetapi penyebarannya masih menemui hambatan bahkan populasinya terancam punah akibat serangan CVPD (Citrus Vein Phloem Degeneration) (Jahja dan Sutoyo, 1991).

Upaya perbanyakannya selama ini dilakukan dengan cangkokan sehingga sulit dilakukan secara besar-besaran sedangkan dengan okulasi banyak mengalami kegagalan karena adanya masalah inkompatibilitas dengan berbagai batang jenis batang bawah yang dicoba. Hal ini menyebabkan makin berkurangnya populasi jeruk kacang di Sumatera Barat (Jahja dan Sutoyo, 1991).

Aternatif yang paling potensial untuk mengatasi kendala tersebut adalah dengan metode kultur jaringan. Manfaat dari kultur jaringan ini antara lain mampu menyediakan bibit tanaman yang sehat dengan jumlah banyak dalam waktu yang re-

latif singkat serta tidak tergantung musim (Winata, 1987).

Sel-sel nucelus dapat menekan tingkat kontaminasi karena sel-sel atau organ-organ yang terdapat dalam biji umumnya steril, sehingga dapat digunakan sebagai sumber eksplan untuk menghasilkan tanaman induk yang bebas virus dan mikoplasma (Jahja dan Sutoyo, 1991; Suryadi, 1982; Suryowinoto, ?).

Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan kultur jaringan adalah zat pengatur tumbuh. Benzil Amino Purin (BAP) adalah zat pengatur tumbuh golongan sitokinin jika dikombinasikan dengan Naphthalene Acetic Acid (NAA) dari golongan auksin akan mendorong pembelahan sel dan menentukan morfogenesis tanaman (Wattimena, 1992).

Media Kitto dan Young merupakan media yang terbaik dalam mendukung pertumbuhan tajuk pada kultur meristem apikal jeruk kacang dibandingkan media Murashige dan Skoog (MS), Murashige dan Tucker (MT), White, Gamborg B5 serta Schenk dan Hildebrandt (Jahja dan Sutoyo, 1991).

Sampai saat ini belum diperoleh konsentrasi NAA dan BAP yang terbaik dalam mendukung pertumbuhan nucelus jeruk kacang, untuk itu penulis melakukan penelitian dengan judul "Laju Pertumbuhan Nucelus Jeruk Kacang (*Citrus nobilis* L.) pada media basal Kitto dan Young.

BAHAN DAN METODA

Percobaan dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang dari bulan Juli sampai Oktober 1995. Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah nucelus jeruk kacang, zat kimia penyusun media basal Kitto dan Young, agar, NAA, BAP aquades steril, alkohol 70%, bayclin 20%, beradine, HCl 0.1 N dan NaOH 0.1 N. Alat-alat yang digunakan meliputi laminar air flow cabinet (kotak pindah), autoklaf, rak kultur yang dilengkapi dengan lampu fluorescence, alat pemanas dengan magnet pengaduk, timbangan analitik, botol kultur, labu ukur, gelas ukur, labu erlenmeyer, cawan petri, pisau scalpel, pinset, pipet, lampu spritus, pH

^{*} Balai Penelitian Buah, Solok

meter, botol semprot, kertas aluminium, plastik, perekat, kertas tissue, kertas label, dan alat-alat tulis.

Percobaan ini merupakan percobaan faktorial yang terdiri dari 2 faktor, masing-masing faktor terdiri dari 4 taraf yang dilaksanakan menurut Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 4 kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 5 observasi. Faktor pertama A adalah pemberian NAA terdiri dari 4 taraf konsentrasi yaitu: A₀ konsentrasi NAA 0 ppm, A₁ konsentrasi NAA 0.2 ppm, A₂ konsentrasi NAA 0.4 ppm, A₃ konsentrasi NAA 0.6 ppm. Faktor kedua B adalah pemberian BAP terdiri dari 4 taraf yaitu: B₀ konsentrasi BAP 0 ppm, B₁ konsentrasi BAP 0.2 ppm, B₂ konsentrasi BAP 0.4 ppm dan B₃ konsentrasi BAP 0.6 ppm, sehingga didapatkan 16 perlakuan yang merupakan kombinasi faktor A dan faktor B. Data hasil pengamatan dianalisis dengan sidik ragam dilanjutkan dengan Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf nyata 5%.

Pelaksanaan

1. Sterilisasi alat

Laminar air flow cabinet dibersihkan dengan kertas tissue, kemudian disemprot dengan alkohol 70%, lalu lampu ultra violet dinyalakan selama 1 - 2 jam. Peralatan yang digunakan: botol kultur, cawan petri, pinset, pisau scalpel, serta aquades disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 1.0 kg/cm² dan suhu 121°C selama 30 menit kemudian disimpan dalam oven dengan suhu 60°C.

2. Pembuatan media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media basal Kitto dan Young. Cara pembuatannya adalah semua bahan-bahan penyusun yang telah dikelompokkan berdasarkan jenis garamnya, ditimbang sesuai takaran, lalu dilarutkan dalam 160 ml aquades. Kemudian larutan tersebut dipipet sesuai dengan kebutuhan dan dimasukkan ke dalam gelas piala 300 ml lalu ditambahkan sukrosa 4 g dan cukupkan volumenya 200 ml dengan menambahkan aquades, terakhir masukkan NAA dan BAP sesuai perlakuan yang diberikan. pH larutan diatur hingga 5.8. Penurunan dan peningkatan pH dilakukan

dengan penambahan beberapa tetes HCl 0.1 N atau NaOH 0.1 N. Selanjutnya media ditambah 1.69 dan dimasak sampai kelihatan bening. Setelah itu dimasukkan ke dalam botol kultur sebanyak 5 ml, lalu ditutup dengan kertas aluminium foil dan disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 1.0 kg/cm² dan suhu 121 selama 20 menit.

3. Penanaman eksplan

Penanaman dilakukan di dalam kotak pindah. Alat-alat yang akan digunakan seperti pinset, lampu spiritus, cawan petri, pisau scalpel dan botol kultur yang berisi media, disemprot dengan alkohol 70% sebelum dimasukkan ke dalam kotak pindah. Eksplan yang digunakan adalah nuselus dari biji jeruk kacang. Biji dikeluarkan dari daging buahnya dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi aquades steril. Di dalam kotak pindah biji tersebut direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit dan bayclin 20% selama 1 menit, kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi aquades steril serta 2 tetes betadin, lalu nuselusnya diambil dengan membuka kulit bijinya dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi aquades steril serta 2 tetes betadine. Selanjutnya nuselus ditanam dalam botol kultur, masing-masing botol ditanam 1 buah nuselus. Penanaman dilakukan di depan lampu spiritus. Botol-botol kultur yang telah siap ditanam ditutup kembali dengan kertas aluminium dan dibalut dengan plastik perekat, kemudian diletakkan di dalam rak kultur yang telah diberi lampu neon 40 watt selama 16 jam per hari dengan suhu 25 - 27 °C. Variabel-variabel yang diamati meliputi persentase eksplan yang hidup (%), persentase eksplan yang membentuk shootlet (%), persentase eksplan yang membentuk rootlet, persentase eksplan yang membentuk plantlet (%), dan bobot plantlet (mg).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Persentase eksplan yang hidup dan eksplan yang membentuk shootlet (%)

Persentase eksplan yang hidup dan eksplan yang membentuk shootlet disajikan pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Persentase eksplan yang hidup pada beberapa konsentrasi NAA dan BAP umur 9 minggu setelah tanam

Faktor A konsentrasi NAA (ppm)	Faktor B konsentrasi BAP (ppm)				Rata-rata
	0	0.2	0.4	0.6	
0	85.00	100.00	80.00	85.00	87.50
0.2	95.00	95.00	90.00	75.00	86.25
0.4	90.00	75.00	85.00	75.00	81.25
0.6	100.00	85.00	80.00	85.00	87.50
Rata-rata	21.25	38.75	30.00	43.75	33.44

Data yang diperoleh berbeda nyata menurut uji F 5%

Tabel 2. Persentase eksplan yang membentuk shootlet pada beberapa konsentrasi NAA dan BAP pada umur 9 minggu setelah tanam

Faktor A konsentrasi NAA (ppm)	Faktor B konsentrasi BAP (ppm)				Rata-rata
	0	0,2	0,4	0,6	
0	30,00	5,00	30,00	50,00	28,75
0,2	0,00	65,00	30,00	25,00	30,00
0,4	20,00	45,00	35,00	35,00	41,25
0,6	35,00	40,00	25,00	65,00	41,25
Rata-rata	21,25	38,75	30,00	43,75	33,44

Data yang diperoleh berbeda tidak nyata menurut uji F 5%

Pada Tabel 1 dan 2 dapat dilihat bahwa pemberian NAA dan BAP pada beberapa konsentrasi memberikan pengaruh tidak nyata. Dengan meningkatnya konsentrasi NAA dan BAP persentase eksplan yang hidup dan eksplan yang membentuk shootlet relatif sama. Hal ini disebabkan karena komposisi zat dalam media telah cocok untuk menyokong kehidupan eksplan dan untuk membentuk shootlet. Diduga juga karena eksplan telah mempunyai auksin dan sitokinin endogen yang telah mencukupi untuk hidup dan membentuk shootlet. Hal ini sesuai dengan pendapat Heddy (1986) bahwa biji-biji yang masih muda mengandung auksin dan sitokinin dalam konsentrasi yang tinggi. Menurut Wiendi, Wattimena dan Gunawan (1991) serta Katuk (1989) faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis tanaman dalam kultur jaringan

dapat digolongkan menjadi 4 golongan utama yaitu : (a) genotipe dari eksplan yang digunakan, (b) media yang digunakan mencakup komponen penyusun media dan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan, (c) lingkungan tumbuh, keadaan fisik tempat kultur ditumbuhkan dan (d) fisiologi jaringan eksplan yang digunakan.

2. Persentase eksplan yang membentuk rootlet (%)

Interaksi antara NAA dan BAP pada berbagai konsentrasi menunjukkan pengaruh yang berbeda tidak nyata, demikian pula NAA. Tetapi BAP memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap eksplan yang membentuk rootlet. persentase eksplan yang membentuk rootlet disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase eksplan yang membentuk rootlet pada beberapa konsentrasi NAA dan BAP umur 9 minggu setelah tanam.

Faktor A konsentrasi NAA(ppm)	Faktor B konsentrasi BAP(ppm)				Rata-rata
	0	0,2	0,4	0,6	
0	30,00	10,00	20,00	5,00	16,25
0,2	40,00	15,00	30,00	15,00	25,00
0,4	45,00	25,00	40,00	20,00	32,50
0,6	45,00	20,00	30,00	5,00	25,00
Rata-rata	40,00	17,50	30,00	11,25	24,69
	P	P9	P9	9	

Data pada baris yang sama yang diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut BNJ 5%.

Semakin tinggi konsentrasi BAP, persentase eksplan yang membentuk rootlet cenderung menurun sehingga diperoleh tanpa pemberian BAP yang terbaik, sebaliknya pemberian NAA pada beberapa konsentrasi tidak mendorong pembentukan rootlet. Menurut Katuk (1989) nisbah auksin dan sitokinin dalam eksplan menentukan arah morfogenesis eksplan. Untuk pembentukan akar dibutuhkan auksin yang lebih tinggi sedangkan untuk pembentukan tunas dibutuhkan sitokinin yang lebih tinggi.

Nuselus kaya akan auksin sehingga tidak memerlukan tambahan auksin dari luar. Hal ini sejalan dengan pendapat Heddy (1986) dan Wiendi *et al* (1991) bahwa nuselus merupakan jaringan meristematis yang kaya akan auksin. Menurut Zulkarnain dan Hadiyono (1992) akar akan terbentuk apabila ada auksin jika dikombinasikan dengan sitokinin pada konsentrasi yang rendah.

3. Persentase eksplan yang membentuk plantlet (%)

Persentase eksplan yang membentuk plantlet disajikan pada Tabel 4. Interaksi antara NAA dan BAP pada beberapa konsentrasi menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata. Dengan meningkatnya konsentrasi NAA dan BAP cenderung menghambat pembentukan plantlet. Perlakuan terbaik adalah tanpa NAA dan pemberian 0,2 ppm BAP. Berarti eksplan masih membutuhkan tambahan sitokinin dari luar untuk pertumbuhan dan perkembangan plantlet. Hal ini sesuai dengan pendapat Wiendi *et al* (1992) untuk morfogenesis dibutuhkan konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan auksin. Sesuai dengan fungsi sitokinin untuk pembelahan sel atau sitokinesis.

Menurut Abidin (1985) sitokinin yang ditambahkan secara eksogen akan berpengaruh pada peningkatan sintesis DNA, RNA dan sintesis protein. Amino purin atau adenin merupakan salah satu basa organik penyusun asam nukleat yang merupakan bahan penyusun kromosom. Setiap pembelahan sel diikuti dengan duplikasi DNA, tanpa adenin DNA tidak terbentuk.

4. Bobot Plantlet (mg)

Rata-rata bobot plantlet dapat dilihat pada Tabel 4. Pemberian 0.2 ppm BAP dan 0 ppm NAA

menunjukkan bobot plantlet yang tertinggi. Bobot plantlet yang tertinggi diperoleh pada pemberian 0.2 ppm BAP dan tanpa NAA, hal ini disebabkan karena sitokinin mendorong pembelahan sel atau sitokinensis. Sesuai dengan pendapat Wiendi *et al* (1992) sitokinin dapat menstimulasi sitokinensis karena adanya adenin dalam DNA.

Tabel 4. Rata-rata bobot plantlet pada beberapa konsentrasi NAA dan BAP umur 9 minggu setelah tanam.

Faktor A konsentrasi NAA(ppm)	Faktor B konsentrasi BAP(ppm)			
	0	25.41	0.4	0.6
0	0.83	2.80	15.13	13.75
0.2	14.35	3.55	8.19	17.98
0.4	7.61	15.03	4.53	9.17
0.6	21.23	15.03	10.88	6.23

Kesimpulan

1. Tidak terdapat interaksi antara NAA dan BAP dalam mendukung pertumbuhan nuseus jeruk kacang pada media basal Kitto dan Young.
2. Pemberian BAP 0.2 ppm dapat meningkatkan plantlet eksplan nuseus jeruk kacang.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1985. Dasar-dasar pengetahuan tentang zat pengatur tumbuh. Angkasa Bandung. 85 hal.
- Heddy S. 1986. Hormon tumbuh. Rajawali, Jakarta. 95 hal.
- Jahja, D. dan Sutoyo. 1991. Usaha memproduksi bibit jeruk bebas CVPD lewat kultur meristem apical jeruk kacang (*Citrus nobilis* L.) pada berbagai media dan komposisi zat pengatur tumbuh Pusat Penelitian Universitas Andalas Padang. 32 hal.
- Kanuk, R.P. 1989. Teknologi kultur jaringan dalam mikropropagasi tanaman. Depdikbud. Dirjen Pendidikan Tinggi P2LPTK, Jakarta. 188 hal.
- Kitto, S.L and M.I. Young. 1981. *In vitro* propagation of carizo citrange. Hort Science 16(3) : p 305-306.
- Suryadi. 1982. Pembiakan tanaman dengan cara teknik kultur in vitro dari berbagai macam jaringan tanaman jeruk dalam medium Murashige dan Skoog. Dept. Agronomi, Fakultas Pertanian IPB, Bogor. 29 hal.
- Suryawirato, M. 1987. Pemuliaan tanaman secara in vitro. Petunjuk Laboratorium. 1. 327 hal.
- Wattimena, G.A. 1992. Bioteknologi tanaman. PAU Bioteknologi IPB. Bogor. 209 hal.
- Wiendi, N.M. G.A. Wattimena, L.W. Ganawan. 1991. Bioteknologi tanaman. TIM Laboratorium kultur jaringan tanaman. PAU Bioteknologi IPB. Bogor. 507 hal.
- Winata, L. 1987. Teknik kultur jaringan. PAU Bioteknologi IPB. Bogor. 252 hal.
- Zulkarnain dan Hadiyoni. 1992. Pengaruh auksin dan BAP terhadap pertumbuhan eksplan tanaman mangga. Majalah Ilmiah, Universitas Jambi, hal 29 - 40.

0000