

**PERBANYAKAN JERUK BESAR *Citrus maxima* (Burm.) Merr. KULTIVAR CIKONENG
DENGAN EKSPLAN KOTILEDON DAN EPIKOTIL**

In Vitro Adventitious Shoot Regeneration from *Citrus maxima* (Burm.) Merr. cv Cikoneng
Using Epicotyl and Cotyledon Sections

Ibnu Habibi Rahman¹, Bambang S Purwoko² dan Iswari S Dewi³

¹Mahasiswa Departemen Agronomi dan Hortikultura

²Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura

³Staf Peneliti BB-Biogen, Cimanggu-Bogor

Abstract

The objective of this research was to determine media suitable for in vitro propagation of Citrus maxima (Burm.) Merr. cv Cikoneng. A Completely Randomized Design with 2 factors was used in this research. This experiment used epicotyl and cotyledon as treatments of first factor and media as the second factor. Optimal multiplication (90%), number of elongated shoot, and developed root system was achieved by media MS + 1.0 mg BAP/l + 1.0 mg K/l + 0.5 mg NAA/l. Cotyledon gave superior yield in multiplication (62%), leaf growth (6 leaves per plant), plant height (2.62 cm), and root system.

KEY Word : *Citrus maxima*, epicotyl, cotyledon, and in vitro

PENDAHULUAN

Pummelo (*Citrus maxima*) adalah tanaman buah tropikal berkayu yang termasuk famili Rutaceae. Tanaman ini lebih terkenal di masyarakat dengan nama jeruk besar. Keseluruhan bagian tanaman ini dapat dimanfaatkan menjadi berbagai macam produk. Daging buahnya mempunyai rasa asam-manis yang merupakan sumber vitamin C alami dan oleh sebagian masyarakat digunakan sebagai obat kudis, sedangkan bijinya dipakai untuk pengobatan asma dan bronchitis. Kulit kayu *Citrus maxima* dapat digunakan sebagai bahan antiseptik dan bagian daunnya yang mengandung minyak esensial yang dipakai sebagai penyedap makanan. Batang kayunya yang kuat dapat dibuat menjadi berbagai bentuk mebel.

Jenis jeruk besar yang masih bertahan dan diperjualbelikan di Indonesia yaitu jenis jeruk Nambangan, sedangkan jenis Cikoneng, Srinyonya, dan Pasaman sudah jarang diperjualbelikan karena semakin sedikitnya petani yang membudidayakan jenis-jenis tanaman ini. Jeruk Cikoneng masih banyak dibudidayakan pada tahun 1980-an. Setelah itu mengalami penurunan luas tanam akibat dari debu yang berasal dari letusan Gunung Galunggung serta serangan penyakit CVPD.

Meski Indonesia disebut sebagai daerah asli jeruk besar, namun negara yang dikenal sebagai pusat pengembangan jeruk besar justru Thailand. Hal ini disebabkan karena usaha pertanaman kebun jeruk di Indonesia kurang didukung oleh penggunaan bibit yang bermutu. Saat ini, penyediaan bibit jeruk besar dilakukan dengan persemaian benih dan okulasi. Kelemahan dari bibit hasil persemaian benih yaitu tidak dapat diperoleh dalam jumlah banyak, sedangkan bibit hasil okulasi seringkali mengalami inkompatibilitas sehingga proses okulasinya gagal. Beberapa hal tersebut mengakibatkan ketersediaan bibit jeruk besar kurang mencukupi.

Berdasarkan hal-hal tersebut, maka diperlukan upaya lain untuk melestarikan jeruk Cikoneng dan

mewujudkan kontinuitas ketersediaan bibit jeruk besar yang sesuai dengan tuntutan keadaan pada saat ini. Upaya yang dapat dilakukan yaitu dengan perbanyakan jeruk secara *in vitro* atau kultur jaringan. Perbanyakan secara *in vitro* pada jeruk mempunyai tingkat keberhasilan yang tinggi karena pada umumnya tanaman ini dibiakkan secara vegetatif. Menurut Wattimena dan Mattjik (1992) beberapa keuntungan yang didapat dari perbanyakan secara *in vitro* yaitu kemudahan dalam menyimpan, menghemat pemakaian lahan, tenaga, erosi genetik dapat dicegah, mempermudah pengiriman, dan bebas dari hama penyakit.

Perbanyakan jeruk secara *in vitro* dapat dilakukan dengan menggunakan eksplan biji dan hipokotil. Biji jeruk mempunyai sifat apomiksis sehingga dapat membentuk tanaman yang *true to type*. Hal ini didukung oleh Ramkrishna *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa hasil perbanyakan jeruk menggunakan eksplan kotiledon yang diuji dengan (RAPD) marker menunjukkan sifat *true-to-type*.

Media perbanyakan jeruk secara *in vitro* yang banyak diujikan dan dipakai yaitu media Murashige dan Skoog yang dikombinasikan dengan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) seperti auksin dan sitokinin. Menurut Ramkrishna *et al.* (2005) perbanyakan plantlets *Citrus reticulata* Blanco dan *Citrus jambhiri* Lush pada media Murashige dan Skoog (MS) dengan 2.0 mg/l BAP + 0.5 mg/l kinetin + 1.0 mg/l NAA memberikan hasil terbaik. Al-Khayri and Al-Bahrany (2001) menyatakan kombinasi media MS dengan 0.5 mg/l kinetin dan 1.0 mg/l BAP terhadap pertumbuhan tunas pada *Citrus aurantifolia* menunjukkan terbaik.

Sudah banyak penelitian perbanyakan secara *in vitro* pada jeruk namun sedikit sekali yang melakukannya pada jeruk besar. Penelitian perbanyakan *in vitro* jeruk besar diharapkan dapat mengatasi masalah ketersediaan bibit dan mempermudah pengembangan usaha jeruk besar di Indonesia.

Penelitian ini bertujuan untuk:

- Mempelajari pengaruh jenis eksplan terhadap multiplikasi dan pertumbuhan tanaman jeruk besar secara *in vitro*
- Mendapatkan formulasi media yang sesuai untuk perbanyak jeruk besar secara *in vitro*

BAHAN DAN METODE

Waktu, Tempat, Bahan dan Alat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai Oktober 2007 hingga akhir Juni 2008. Penelitian ini bertempat di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian Cimanggu Bogor. Alat yang digunakan yaitu alat-alat standar operasional kultur jaringan. Bahan penelitian yang digunakan adalah media tanam MS, NAA, Kinetin, BAP, Bayclin, dan biji jeruk besar varietas Cikoneng.

Metode

Penelitian dilaksanakan dengan rancangan acak lengkap faktorial dengan 2 perlakuan, yaitu jenis eksplan dan media tanam. Jenis eksplan terdiri atas 2 taraf, yaitu kotiledon dan epikotil. Media tanam terdiri atas 5 taraf, yaitu

- 1 = MS + 1.0 mg BAP/l + 0.5 mg K/l + 0.5 mg NAA/l
- 2 = MS + 2.0 mg BAP/l + 0.5 mg K/l + 0.5 mg NAA/l
- 3 = MS + 1.0 mg BAP/l + 1.0 mg K/l + 0.5 mg NAA/l
- 4 = MS + 2.0 mg BAP/l + 0.5 mg K/l + 1.0 mg NAA/l
- 5 = MS + 2.0 mg BAP/l + 1.0 mg K/l + 1.0 mg NAA/l

Kombinasi perlakuan masing-masing diulang 7 kali. Model linear aditif dari rancangan percobaan ini sebagai berikut (Mattjik *et al.* 2000):

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

$j = 1, 2, 3, 4, 5 \quad k = 1, 2, \dots, 7 \quad i = 1, 2$

Dimana :

Y_{ijk} = nilai pengamatan pada faktor jenis eksplan taraf ke- i faktor media tanam taraf ke- j dan ulangan ke- k

μ = rata-rata umum

α_i = Pengaruh faktor jenis eksplan

β_j = Pengaruh faktor media tanam

$(\alpha\beta)_{ij}$ = komponen interaksi dari faktor jenis eksplan dan faktor media tanam

ϵ_{ijk} = pengaruh acak yang menyebar normal $(0, \sigma^2)$

Data analisis menggunakan sidik ragam, dan apabila hasilnya berbeda nyata, dilakukan uji lanjut TUKEY Beda Nyata Jujur (Honestly Significant Difference)

Pelaksanaan Penelitian

Sterilisasi dilakukan dengan mengeluarkan biji dari buah dan dicuci di bawah air mengalir. Kemudian biji dicuci dengan 20 % Bayclin yang mengandung 5.24 % NaOCl selama 20 menit. Biji dikeringanginkan di dalam *laminar airflow* selama 12-15 jam. Lalu biji dipak dalam botol kaca. Biji disimpan pada suhu 4^o C selama 1 bulan.

Di *laminar airflow* kulit biji bagian luar dan dalam dibuang kemudian dilakukan sterilisasi permukaan dengan penambahan 20% Bayclin selama 20 menit. Setelah itu, eksplan dicuci kembali 3 kali dengan air steril. Kotiledon (3/4 bagian) digunakan untuk eksplan

pertama sedangkan ¼ bagian lainnya ditanam di MSO pada kondisi gelap (\pm 4 minggu) untuk memperoleh eksplan kedua yaitu potongan epikotil \pm 1cm. Eksplan kotiledon dan epikotil dikulturkan pada lima macam media yaitu:

- MS + 1.0 mg BAP/l + 0.5 mg K/l + 0.5 mg NAA/l;
- MS + 2.0 mg BAP/l + 0.5 mg K/l + 0.5 mg NAA/l;
- MS + 1.0 mg BAP/l + 1.0 mg K/l + 0.5 mg NAA/l;
- MS + 2.0 mg BAP/l + 0.5 mg K/l + 1.0 mg NAA/l; dan
- MS + 2.0 mg BAP/l + 1.0 mg K/l + 1.0 mg NAA/l .

Tiap-tiap botol ditanam empat kotiledon atau lima epikotil. Eksplan kotiledon ditanam dengan posisi terbalik (bagian dalam kotiledon menghadap ke atas) sedangkan eksplan epikotil ditanam dengan posisi horizontal. Kedua jenis eksplan kemudian diinkubasi di ruang gelap pada suhu 22^oC untuk inisiasi organogenesis.

Tunas adventif yang terbentuk (2-3 cm panjang) dipindahkan ke media perakaran yaitu MS + 2.0 mg IBA/l dan 100 mg arang aktif dan diinkubasi di ruang terang.

Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 17 minggu setelah tanam. Variabel yang diamati:

1. Jumlah tunas tiap kotiledon dan epikotil yang diamati selama 4 MST
2. Rasio jumlah tunas terhadap eksplan yang diamati pada 4 MST
3. Jumlah daun diamati setiap minggu dimulai satu minggu setelah subkultur ke media perakaran
4. Jumlah akar diamati setiap minggu dimulai satu minggu setelah dipindah ke media perakaran
5. Tinggi pada 1, 2, 3, 4 dan 13 MST.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum

Eksplan (biji *Citrus maxima* (Burm.) Merr. cv *Cikoneng*) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari kebun pertanian jeruk besar di Sumedang. Biji *Citrus maxima* (Burm.) Merr. cv *Cikoneng* ini telah mengalami masak fisiologis dan telah mengalami masa penyimpanan dalam suhu dingin selama 1 bulan.

Persentase kontaminasi pada set percobaan yang terjadi sangat rendah yaitu hanya 6 botol (3 botol perlakuan eksplan kotiledon dan 3 botol perlakuan eksplan epikotil) dari 300 botol media yang ditanami (2.00 %). Hal ini menunjukkan keefektifan metode sterilisasi yang digunakan. Kontaminasi eksplan kotiledon yang disebabkan oleh cendawan terjadi pada lima minggu setelah tanam sedangkan kontaminasi eksplan epikotil terjadi pada minggu ke tiga setelah tanam.

Penyebab mudahnya terbentuk tunas pada eksplan kotiledon karena struktur permukaan kotiledon memiliki sel-sel yang memang berfungsi untuk penyerapan air. Lebih lamanya inisiasi tunas pada eksplan epikotil disebabkan fase pembentukan tunas eksplan epikotil diawali dengan proses diferensiasi sel terlebih dahulu dengan membentuk kalus.

Selama menuju inisiasi tunas, terjadi perubahan warna dan ukuran kotiledon *Citrus maxima* (Burm.)

Merr. cv Cikoneng dalam semua media perlakuan. Ukuran kotiledon pada saat tanam menjadi bertambah besar dan warna kotiledon berubah dari kuning menjadi hijau pada satu minggu setelah tanam (MST) sampai kotiledon bertunas.

Waktu yang diperlukan sampai terbentuknya tunas kotiledon rata-rata 4-5 minggu setelah tanam pada semua jenis media. Pemunculan tunas pertama kali ditunjukkan pada media 1 dan 3. Jumlah tunas yang terbentuk pada tiap-tiap kotiledon berjumlah 1-5 tunas.

Rasio Jumlah Tunas terhadap Eksplan

Rasio jumlah tunas terhadap eksplan didapat dari perbandingan jumlah tunas yang dihasilkan per jumlah eksplan pada tiap-tiap botol. Nilai rasio jumlah tunas terhadap eksplan berfungsi untuk melihat efisiensi media dan eksplan dalam menghasilkan tunas. Penilaian rasio jumlah tunas terhadap eksplan dilakukan pada minggu ke empat pengamatan jumlah tunas. Berdasarkan sidik ragam, interaksi media dengan eksplan tidak berbeda nyata.

Tabel 1. Pengaruh Tunggal Perlakuan Jenis Eksplan dan Media dengan Media terhadap Rasio Jumlah Tunas Terhadap Eksplan *Citrus maxima* (*Burm.*) *Merr. cv* Cikoneng

EKSPLAN	4 MST
Kotiledon	0.62a
Epikotil	0.37b

MEDIA	4 MST
Media 1	0.72ab
Media 2	0.26c
Media 3	0.90a
Media 4	0.32bc
Media 5	0.26c

Keterangan: Huruf yang sama pada nilai rata-rata menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji F (eksplan) dan uji TUKEY (media)

Berdasarkan data pengaruh tunggal jenis eksplan (Tabel 1), terlihat bahwa rasio jumlah tunas terhadap eksplan kotiledon berbeda nyata terhadap eksplan epikotil. Nilai rata-rata rasio jumlah tunas yang dihasilkan eksplan epikotil hampir setengahnya dari eksplan kotiledon. Hal tersebut menunjukkan bahwa eksplan kotiledon lebih baik dalam menghasilkan tunas dibandingkan dengan eksplan epikotil.

Pengujian media dalam faktor tunggal menunjukkan nilai rata-rata tertinggi terdapat pada media 3 dan nilai rata-rata terkecil pada media 5. Media 3 berbeda nyata dengan media 2, 4, dan 5. Berdasarkan data (Tabel 1), media 1 dan media 3 merupakan media terbaik dalam menghasilkan tunas. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Chandra, *et al* (2003) bahwa penambahan 1 mg/l BAP and 0.5 mg/l K pada eksplan kotiledon lemon dapat menghasilkan jumlah tunas per eksplan terbanyak.

Tinggi Tanaman

Pengamatan tinggi tanaman dilakukan selama empat minggu. Kombinasi pengamatan jenis media dan eksplan tidak terlihat berbeda nyata namun pengaruh tunggal jenis eksplan (Tabel 2) menunjukkan hasil yang sangat berbeda nyata mulai pada minggu ke dua hingga minggu ke empat. Tinggi tanaman yang dihasilkan eksplan kotiledon jauh lebih tinggi dari pada eksplan epikotil.

Tabel 2. Pengaruh Tunggal Perlakuan Jenis Eksplan terhadap Tinggi Tanaman *Citrus maxima* (*Burm.*) *Merr. Cv* Cikoneng selama 4 minggu

EKSPLAN	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST
cm.....			
Kotiledon	0.31a	0.88a	1.17a	1.47a
Epikotil	0.18a	0.32b	0.39b	0.36b

Keterangan: Huruf yang sama pada nilai rata-rata menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji F

Tabel 3. Pengaruh Tunggal Perlakuan Jenis Media terhadap Tinggi Tanaman *Citrus maxima* (*Burm.*) *Merr. cv* Cikoneng selama 4 Minggu

MEDIA	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST
 cm			
Media 1	0.33ab	0.78a	1.10ab	1.20a
Media 2	0.19ab	0.63a	0.71ab	0.72a
Media 3	0.49a	0.99a	1.26a	1.37a
Media 4	0.19ab	0.34a	0.45b	0.55a
Media 5	0.07b	0.27a	0.38b	0.74a

Keterangan: Huruf yang sama pada nilai rata-rata menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji TUKEY

Data pengaruh tunggal perlakuan jenis media pada Tabel 3 memperlihatkan seluruh media pada 2 dan 4 MST tidak berbeda nyata. Pengaruh media 3 tidak berbeda nyata dengan media 1 dan 2. media 3 memberikan rata-rata nilai tertinggi dan media 5 memberikan rata-rata nilai terendah.

Menurut Ramkrishna, *et al* (2005) perbanyak plantlets *Citrus reticulata* Blanco dan *Citrus jambhiri* Lush pada media Murashige dan Skoog (MS) dengan 2.0 mg/l BAP + 0.5 mg/l kinetin + 1.0 mg/l NAA (media 4) memberikan hasil terbaik. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan jenis varietas jeruk yang berbeda menghasilkan respon yang berbeda pula.

Tabel 4. Pengaruh Tunggal Perlakuan Jenis Eksplan dengan Media terhadap Tinggi Akhir *Citrus maxima* (Burm.) Merr. cv Cikoneng pada 13 MST

EKSPLAN	...cm...
Kotiledon	2.63a
Epikotil	1.54b
MEDIA	..cm..
Media 1	2.23a
Media 2	2.08a
Media 3	2.43a
Media 4	1.77a
Media 5	1.90a

Keterangan: Huruf yang sama pada nilai rata-rata menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji nilai F (eksplan)

Tanaman yang didapatkan setelah 4 MST kemudian disubkultur ke media perakaran, lalu dilakukan pengukuran tinggi akhir pada 13 MST. Data perlakuan tunggal jenis eksplan (Tabel 4) menunjukkan bahwa tinggi akhir tanaman asal eksplan kotiledon terlihat berbeda nyata terhadap tanaman asal eksplan epikotil. Pada pengamatan faktor tunggal jenis media, tinggi akhir tanaman tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Interaksi antara eksplan dan jenis media tidak nyata.

Jumlah Daun

Pengamatan daun dilakukan setelah eksplan disubkultur pada media perakaran dan waktu pengamatan dilakukan selama 13 minggu. Data pengamatan pengaruh tunggal jenis eksplan (Tabel 5) menunjukkan bahwa sejak 4 MST hingga 13 MST, jumlah daun yang dihasilkan eksplan kotiledon lebih banyak dibandingkan eksplan epikotil. Rata-rata jumlah daun yang berasal dari eksplan epikotil sejak 4 MST mengalami pengurangan daun sehingga rata-rata nilainya terus mengalami penurunan hingga 13 MST.

Tabel 5. Pengaruh Tunggal Perlakuan Jenis Eksplan dengan Media terhadap Jumlah Daun *Citrus maxima* (Burm.) Merr. cv Cikoneng selama 13 Minggu

EKSPLAN	1 MST	4 MST	7 MST	10 MST	13 MST
.....daun.....					
Kotiledon	2.5a	4.5a	5.2a	5.4a	6.3a
Epikotil	2.0a	2.8b	2.7b	2.2b	2.2b

Keterangan: Huruf yang sama pada nilai rata-rata menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji F

Terlihat pada Tabel 6 bahwa selama minggu pertama hingga minggu ke tujuh tiap-tiap media tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Pada minggu ke sepuluh baru terlihat perbedaan antara media 4 dengan media 1. Nilai terendah terdapat pada media 4 dan nilai tertinggi terdapat pada media 1 dan 3.

Tabel 6. Pengaruh Tunggal Perlakuan Jenis Media terhadap Jumlah Daun *Citrus maxima* (Burm.) Merr. cv Cikoneng selama 13 Minggu

MEDIA	1 MST	4 MST	7 MST	10 MST	13 MST
.....daun.....					
Media 1	3.3a	4.5a	5.2a	5.7a	6.2a
Media 2	2.2a	3.0a	3.3a	2.8ab	3.3ab
Media 3	1.7a	5.0a	5.7a	5.7a	6.0a
Media 4	2.3a	3.3a	2.8a	2.2b	2.2b
Media 5	1.7a	2.5a	2.7a	2.7ab	3.7ab

Keterangan: Huruf yang sama pada nilai rata-rata menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji TUKEY

Jumlah Akar

Pertumbuhan akar pada tunas asal eksplan kotiledon jauh lebih cepat dibandingkan tunas asal eksplan epikotil. Berdasarkan tabel data jumlah akar (Tabel 7), tunas asal eksplan kotiledon telah membentuk akar pada 4 MST sedangkan tunas asal eksplan epikotil baru membentuk akar pada 10 MST. Jumlah akar tanaman asal eksplan kotiledon berbeda nyata dan lebih banyak dari pada tanaman asal eksplan epikotil.

Tabel 7. Pengaruh Tunggal Perlakuan Jenis Eksplan dengan Media terhadap Jumlah Akar *Citrus maxima* (Burm.) Merr. cv Cikoneng selama 13 Minggu

EKSPLAN	1 MST	4 MST	7 MST	10 MST	13 MST
.....akar.....					
Kotiledon	0a	0.6a	0.8a	1.2a	1.2a
Epikotil	0a	0a	0b	0.2b	0.2b

Keterangan: Huruf yang sama pada nilai rata-rata menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji F

Berdasarkan penelitian Begum *et al.* (2004) pada *Citrus grandis* [L.] Osb, didapatkan bahwa NAA lebih efektif menginduksi pembentukan akar jika dibandingkan dengan IBA dan IAA. Penelitian Paudyal dan Haq (2000) pada eksplan epikotil *Citrus grandis* [L.] yang ditanam pada ½ MS + 1.0 mg NAA/l) menghasilkan sistem perakaran yang maksimal.

Tabel 8. Pengaruh Tunggal Perlakuan Jenis Media terhadap Jumlah Akar *Citrus maxima* (Burm.) Merr. cv Cikoneng selama 13 MST

MEDIA	1 MST	4 MST	7 MST	10 MST	13 MST
.....akar.....					
Media 1	0a	0.5a	0.7a	0.7ab	0.7ab
Media 2	0a	0.3a	0.7a	0.7ab	0.7ab
Media 3	0a	0.2a	0.2a	0.2a	1.2a
Media 4	0a	0.3a	0.3a	0.3b	0.3b
Media 5	0a	0.2a	0.2a	0.7ab	0.7ab

Keterangan: Huruf yang sama pada nilai rata-rata menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji TUKEY

Hasil data pengaruh tunggal perlakuan jenis media (Tabel 8) menunjukkan hasil yang tidak nyata pada 1 MST hingga 7 MST. Pada 10 MST hingga 13 MST jumlah akar tidak mengalami pertambahan hal ini terlihat dari nilai rata-rata tiap-tiap media yang seragam kecuali media 3. Jumlah akar terbanyak dihasilkan pada media 3 namun tidak berbeda nyata terhadap media 1 dan media 2. Nilai terendah terdapat pada media 4.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Media 3 (MS + 1.0 mg BAP/l + 1.0 mg K/l + 0.5 mg NAA/l) memberikan nilai rata-rata tertinggi pada rasio jumlah tunas terhadap eksplan, jumlah akar, tinggi tanaman. Eksplan kotiledon memberikan hasil yang lebih baik dibanding eksplan epikotil dalam rasio bertunas, tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah akar. Teknik sterilisasi yang dilakukan terbukti baik. Interaksi antara media dan jenis eksplan tidak terlihat perbedaannya.

Saran

Untuk mendapatkan multiplikasi tanaman pertumbuhan akar, dan tinggi tanaman disarankan menggunakan media 3 (MS + 1.0 mg BAP/l + 1.0 mg K/l + 0.5 mg NAA/l) dan eksplan yang berasal dari kotiledon.

DARTAR PUSTAKA

- Al-Khayri, J.M and A.M. Al- Bahrany. 2001. In Vitro micropagation of *Citrus aurantifolia* (lime). *Current Science*. 81(9):1242-1246.
- Begum, F., S Islam, M. A. K. Azad and M. N. Amin. 2004. A comparative study of axillary shoot proliferation from the nodal explants of three varieties Pummelo (*Citrus grandis* [L.] Osb.). *Biotechnology*. 3 (1): 56-62
- Chandra, A., V. Gupta, P. Burma and D. Pental, 2003. Patterns of morphogenesis from cotyledon explants of Citron (*C. medica* L.). *In Vitro Cell. and Dev. Biol.*, 39: 514-9
- Mattjik, Ahmad Ansori dan Made Sumertajaya. 2000. *Rancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab*. IPB Press. Bogor. 325p.
- Paudyal, K.P and Haq N. 2000. In Vitro propagation of pummelo (*Citrus grandis* L. Osbeck). *In Vitro Cellular and Development Biology-Plant*. 36(6): 511-516
- Ramkrishna, N. Khawale and S.K. Singh. 2005. In-vitro adventitious embryonic in Citrus: A technique for Citrus germplasm exchange. *Current Science*. 88(8): 1309-1311.

Wattimena, G. A dan N. A. Mattjik. 1992. Pemuliaan tanaman secara *In Vitro*, hal 150-272. dalam G. A. Wattimena. *Bioteknologi Tanaman*. Pusat Antar Universitas IPB. Bogor. 445 hal.

