

MSY 12

ISBN: 978-979-95503-5-4

# PROSIDING

**SIMPOSIUM DAN KONGRES NASIONAL VI  
PERHIMPUNAN ILMU PEMULIAAN INDONESIA  
Bogor, 18-19 November 2009**

**'PERAN PEMULIAAN DALAM MEWUJUDKAN MDG's 2015  
TERKAIT DENGAN PENGELOLAAN WEHAB  
(WATER, ENERGY, HEALTH, AGRICULTURE AND BIODIVERSITY)'**



**PERHIMPUNAN ILMU PEMULIAAN INDONESIA  
FAKULTAS PERTANIAN INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BADAN LITBANG PERTANIAN DEPARTEMEN PERTANIAN RI  
BOGOR, 2010**

# INDUKSI KALUS PADA KULTUR ANTERA JERUK KEPROK

M Kosmiatin dan A Husni<sup>1)</sup>, A. Purwito<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian

<sup>2)</sup>Departemen Agronomi dan Hortikultura, Faperta, IPB

## ABSTRAK

Jeruk keprok adalah jeruk lokal unggulan Indonesia yang termasuk dalam *true species* dari genus Citrus. Jeruk ini rasanya cukup manis tetapi kualitasnya belum unggul karena jumlah bijinya banyak. Peningkatan kualitas buah tanpa biji dapat dilakukan dengan perakitan jeruk triploid. Salah satu pendekatan untuk memperoleh jeruk triploid adalah dengan memfusi sel diploid dengan sel haploid sehingga diperoleh sel fusan dengan tingkatan ploidi triploid. Pada strategi ini, populasi sel haploid dapat diperoleh dengan mengkulturkan antera dengan mikrospora berinti tunggal. Penelitian dilakukan untuk menginduksi pembentukan kalus dari kultur antera sehingga diperoleh populasi sel haploid. Penelitian dilakukan dalam 2 kegiatan yaitu: penelitian tahap perkembangan mikrospora uninukleat pada antera jeruk keprok dan induksi pembentukan kalus dari kultur antera jeruk keprok. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kuncup bunga dengan ukuran kelopak dan mahkota = 2:5 dan 2:6 mm, memiliki persentase sel mikrospora berinti tunggal lebih dari 90%. Media terbaik untuk menginduksi kalus dari antera jeruk keprok adalah media MT dengan penambahan pikloram atau 2,4 D 30 mg/l.

## PENDAHULUAN

Jeruk keprok adalah jeruk lokal unggulan Indonesia yang termasuk dalam *true species* dari genus Citrus. Jeruk ini rasanya cukup manis dan hampir mendekati kategori tipe jeruk yang sesuai dengan kebutuhan pasar dunia untuk konsumsi dalam keadaan segar. Tetapi jeruk tersebut masih mempunyai biji yang relatif banyak, berkisar antara 15-23 biji per buah sehingga kalah bersaing dengan jeruk produk negara lain. Hal ini terbukti dengan maraknya buah impor jeruk di pasar lokal mulai dari kaki lima, toko buah dan supermarket yang menekan produk jeruk lokal sehingga menjadi terpuruk dan mengakibatkan kerugian bagi petani jeruk. Keadaan ini diperparah lagi dengan mulai diberlakukannya ASEAN FTA/AFTA yang disusul dengan ASEAN-China FTA. Dengan semakin rendahnya tingkat hambatan tarif yang disepakati dalam kedua kesepakatan itu, maka pasar sesama ASEAN termasuk Indonesia semakin terbuka bagi produk-produk pertanian dari negara-negara produsen jeruk (China, Amerika Serikat, Australia, dan Pakistan) yang tingkat pertumbuhannya sangat pesat dan mempunyai harga yang relatif lebih rendah sehingga menyebabkan komoditas jeruk lokal menjadi lebih terpuruk lagi (Hutabarat dan Setyanto, 2007).

Untuk menghindari tekanan buah jeruk impor tersebut maka diperlukan sentuhan inovasi teknologi terhadap jeruk lokal untuk meningkatkan kualitas buah sehingga dapat diterima dan bersaing di pasar global. Salah satu cara yang dapat dilakukan secara efisien dan efektif adalah membuat tanaman jeruk lokal tipe baru yang *seedless* sehingga dihasilkan jeruk yang tidak menghasilkan biji dan mempunyai warna yang menarik. Peningkatan kualitas buah ini dapat memenuhi permintaan dan bersaing di pasar global. Menurut Falavigna dan Rotino, (2005), tidak terbentuknya biji dalam buah dapat meningkatkan produktivitas dan mutu buah seperti pada tanaman pisang, terung, anggur, semangka dan *persimmon*.

Perbaikan jeruk tanpa biji dapat dilakukan dengan berbagai cara. Salah satu cara yang banyak dilakukan sekarang ini adalah manipulasi tingkat ploidi. Perubahan tingkat

ploid akan menimbulkan perubahan ukuran dan vigoritas pohon, kualitas dan ketiadaan biji dalam buah (Mooney *et al.*, 1997). Penggunaan kultivar poliploid mulai komersil sejak dikenalnya jeruk *Tahiti lime* yang merupakan jeruk triploid hasil poliploidisasi spontan (Bachi, 1940) dan tetraploid *Triphasia* (Esen and Soost, 1972) yang merupakan jenis jeruk yang hampir tidak memiliki biji sama sekali.

Tanaman dengan tingkat ploidi yang triploid biasanya mempunyai buah yang steril (tanpa biji) sehingga mempunyai nilai komersial yang tinggi. Penggunaan jeruk triploid lebih banyak digunakan karena tanaman lebih vigor dan daun lebih lebar serta lebih tebal (Gmitter dan Ling, 1991), tumbuh lebih cepat, panen lebih baik dan lebih dapat beradaptasi dengan lingkungan yang lebih luas dibanding tanaman jeruk tetraploid (Usman *et al.*, 2006). Dari segi ekonomis jeruk triploid memiliki nilai yang lebih baik dibanding jeruk tetraploid.

Banyak teknik telah dikembangkan untuk memanipulasi jumlah kromosom jeruk baik dengan persilangan konvensional maupun teknik-teknik non konvensional. Hibridisasi somatik melalui teknik fusi protoplas adalah terobosan teknik yang memungkinkan diperoleh tanaman dengan sifat dari 2 jenis protoplas yang difusikan. Peluang keberhasilan penggunaan teknologi ini untuk merakit jeruk keprok lokal tipe baru dengan sifat-sifat unggul sangat tinggi. Melalui fusi protoplas dapat dilakukan penggabungan sifat genetik dari dua spesies atau genus yang berbeda (Millam *et al.*, 1995; Waara dan Glimelius, 1995; Purwito, 1999; Husni *et al.*, 2004).

Tanaman jeruk triploid dapat juga diperoleh dengan menggabungkan protoplas diploid ( $2n$ ) dengan haploid ( $n$ ) sehingga diperoleh hybrid dengan tingkatan ploidi triploid (Ling *et al.*, 1988). Teknik fusi protoplas ini sudah banyak yang berhasil dilakukan seperti di CIRAD, Amerika, Jepang, Israel, dan Cina. Saat ini sudah dilaporkan adanya 200 jeruk poliploid hasil fusi protoplas (Ollitrault *et al.*, 2000).

Strategi penggabungan protoplas diploid dan haploid akan dilakukan pada perakitan jeruk keprok triploid. Melalui cara ini induksi populasi sel haploid hanya dilakukan sampai tahapan kalus saja. Kalus ini kemudian digunakan sebagai sumber isolasi protoplas dengan level genom haploid. Protoplas haploid ini kemudian difusikan dengan protoplas diploid sehingga diperoleh hasil fusan yang mempunyai level genom triploid. Fusan yang diperoleh selanjutnya diregenerasikan menjadi tanaman baru dengan level genom triploid dan diharapkan buah yang dihasilkan tidak berbiji.

Pada penelitian ini akan dilakukan pengkulturan anthera untuk mendapatkan kalus haploid yang selanjutnya akan digunakan untuk difusikan dengan populasi sel diploid yang sudah tersedia. Tujuan penelitian ini adalah untuk menginduksi pembentukan kalus haploid dari kultur anthera jeruk keprok sehingga diperoleh populasi sel haploid.

## METODOLOGI

Penelitian dilakukan di laboratorium kultur *in vitro* Kelompok Peneliti Biologi Sel dan Jaringan BB BIOGEN dan Laboratorium Bioteknologi Departemen Agronomi dan Hortikultura, Faperta, IPB.

Bahan tanaman yang digunakan adalah kuncup bunga jeruk keprok yang diperoleh dari Kebun Percobaan Balai Penelitian Jeruk dan buah sub tropis, Batu, Jawa Timur.

Penelitian dilakukan dalam dua tahap penelitian yaitu: Penelitian tahap perkembangan mikrospora uninukleat pada anthera jeruk keprok dan Induksi pembentukan kalus dari kultur anthera jeruk keprok. Prosedur kerja penelitian meliputi:

### 1. Penelitian tahap perkembangan mikrospora uninukleat pada anthera jeruk keprok

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah berbagai ukuran pertumbuhan kuncup bunga jeruk keprok terpilih yang pembungaannya diinduksi dengan

memberikan cekaman kering pada tanaman induk jeruk keprok diploid. Kuncup bunga dipanen dengan ukuran perbandingan kelopak:mahkota=1:1; 1:1.5; 1:2; 1:2.5; 1:3 dan bunga mekar. Antera digerus dalam air atau larutan fiksasi. Pengamatan inti mikrospora dilakukan dengan memecah kantung antera, penghitungan inti dilakukan secara mikroskopik dengan pewarnaan aceto carmine.

Pengamatan dilakukan terhadap inti mikrospora, tunggal atau ganda dan persentase inti tunggal dibandingkan dengan inti ganda.

## 2. Induksi pembentukan kalus dari kultur antera jeruk keprok

Bahan tanaman yang digunakan untuk kultur antera adalah kuncup bunga dengan tahap perkembangan mikrospora inti tunggal yang sudah dipraperlakukan dengan perlakuan dingin. Kuncup bunga disterilkan dengan sterilan alkohol 96 dan 70%, kloroks 30% kemudian dibilas dengan aquades steril.

Isolasi antera dilakukan dengan membuka kelopak bunga, filamen dari antera dibuang, antera kemudian dikulturkan pada berbagai formulasi media.

Penelitian dilakukan secara serial untuk menentukan formulasi media terbaik yang dapat mempertahankan viabilitas antera dan dapat menginduksi pembentukan kalus. Media dasar yang dicoba adalah media dasar MS; N6; MT; yang dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh NAA; 2,4-D; Kinetin; BA; pikloram. Pada media juga ditambahkan bahan organik lain. Sumber karbon yang dicoba adalah sukrosa dan media dipadatkan dengan phytagel dan kemasaman media diatur 5.8.

Kultur diinkubasi pada kondisi gelap dan diberi cahaya putih dari lampu TL dengan fotoperioditas 16 jam bila terbentuk kalus. Suhu ruang inkubasi diatur pada temperature 21-25 °C.

Pengamatan dilakukan pada persentase keberhasilan pembentukan kalus, pembengkakan antera dan viabilitas antera.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penelitian tahap perkembangan mikrospora uninukleat pada antera jeruk keprok.

Pada kultur haploid tahapan yang penting adalah penggunaan antera yang dapat diubah arah perkembangan dari gametofitik dimana sel mikrospora akan berubah menjadi gamet menjadi sporofitik dimana sel mikrospora diarahkan untuk membentuk tanaman. Perubahan arah perkembangan dapat dilakukan pada tingkatan *mid - late uninukleat* (awal-akhir inti tunggal) dimana inti mikrospora hanya satu dan sedang bergerak ke arah dinding sel mikrospora untuk melakukan pembelahan inti. Tahapan perkembangan ini dapat diamati dari tahapan perkembangan bunga dengan melihat perbandingan ukuran kelopak dan mahkota bunga. Pada kedelai perbandingan kelopak:mahkota bunga menentukan jumlah mikrospora dengan inti tunggal (Kaltchuk-Santos *et al.*, 1997).

Tahapan perkembangan mikrospora dilakukan pada bunga yang masih kuncup dengan berbagai ukuran mahkota bunga. Dari Balai Penelitian Jeruk dan buah subtropis diperoleh 3 jenis jeruk keprok (keprok 1, 2 dan 3). Pada kuncup bunga tersebut ukuran kelopak bunga 2 mm, sedangkan ukuran mahkota bunga beragam yaitu 2, 3, 4, 5, dan 6 mm.

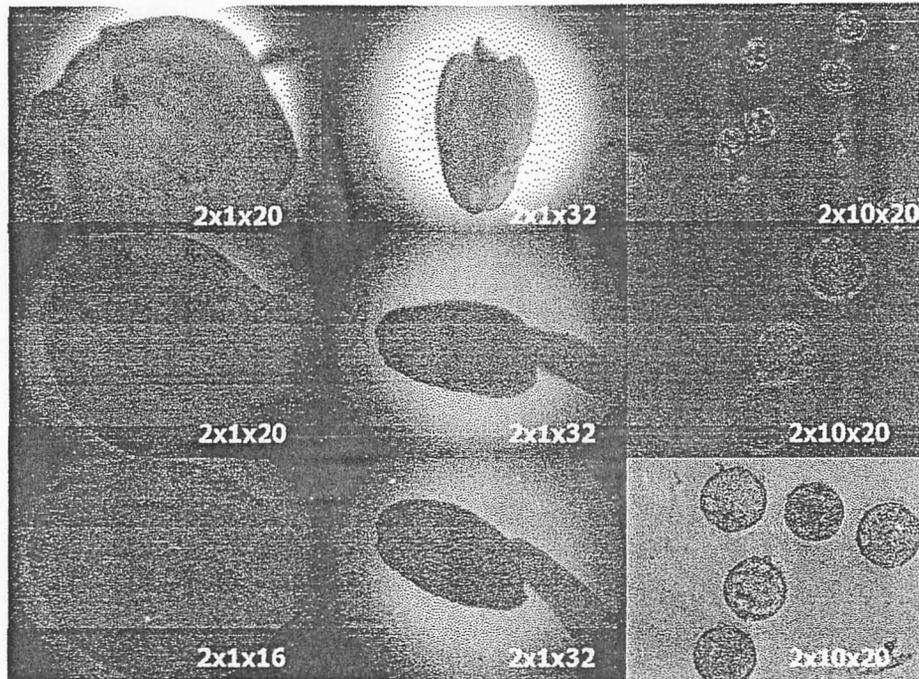
Dari hasil pengamatan dengan mikroskop diketahui bahwa bunga jeruk keprok dengan ukuran mahkota kuncup bunga antara 5-6 mm, memiliki persentase mikrospora dengan inti tunggal tertinggi, lebih dari 80% (Tabel 1). Pada jeruk keprok3 dengan ukuran mahkota kuncup bunga 6 mm menunjukkan 100% sel mikrospora berinti 1 dari 3 kali penghitungan.

Tabel 1. Tahapan perkembangan inti mikrospora dari antera p-ada berbagai ukuran bunga jeruk keprok yang ditanam di Kabupaten Garut.

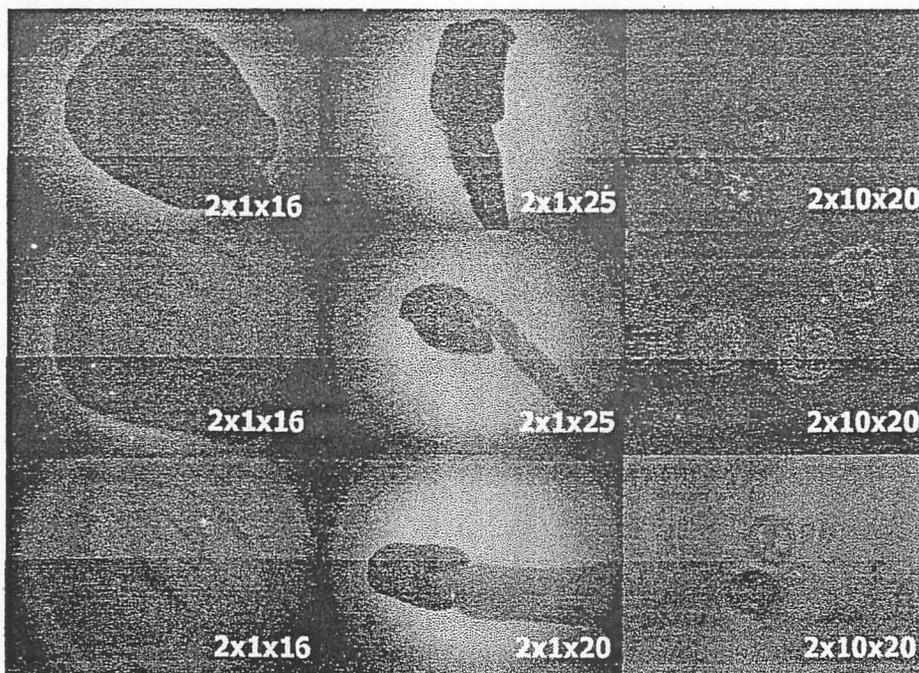
Jenis Jeruk	Ukuran Mahkota Bunga (mm)	Inti 1 (%)	Inti 2 (%)	Tidak teramati (%)	Keterangan
Jeruk Keprok 3	2	5.90	0.00	94.1	Sel mikrospora masih berupa sel induk mikrospora (2n)
	3	-	-	-	Bunga tidak tersedia
	4	-	-	-	Bunga tidak tersedia
	5	94.29	1.11	4.60	
	6	100.00	0.00	0.00	
Jeruk keprok2	2	-	-	-	Bunga tidak tersedia
	3	66.06	0.00	33.94	
	4	77.82	0.00	22.18	
	5	-	-	-	Bunga tidak tersedia
	6	84.05	9.99	5.95	
Jeruk Keprok1	2	27.99	0.00	72.01	Sel mikrospora masih berupa sel induk
	3	66.22	0.00	33.78	
	4	88.11	0.00	11.89	
	5	94.30	0.00	5.70	
	6	98.55	1.45	0.00	

Secara visual, ukuran mahkota kuncup bunga dari ke 3 jenis jeruk keprok yang berukuran sama tidak begitu berbeda tingkat perkembangan inti mikrosporannya. Pada bunga dengan ukuran mahkota 2 mm, jumlah sel induk mikrospora (*mother cells*) masih lebih banyak dibanding sel mikrospora dengan inti satu. Seiring dengan perkembangan kuncup bunga, jumlah mikrospora berinti satu juga bertambah. Kuncup bunga dengan ukuran 5-6 mm menunjukkan jumlah mikrospora berinti tunggal yang tinggi bahkan pada jeruk keprok 3 mencapai 100%. Pada kuncup bunga dengan mahkota berukuran 6 mm dari jeruk keprok 1 dan 2, mulai menunjukkan perkembangan tahapan mikrospora dengan dua inti dan beberapa sel sudah tidak dapat diamati dengan mikroskop karena kandungan pati yang tinggi. Kematangan sel mikrospora (polen) ditandai dengan tingginya kadar pati pada vakuolanya.

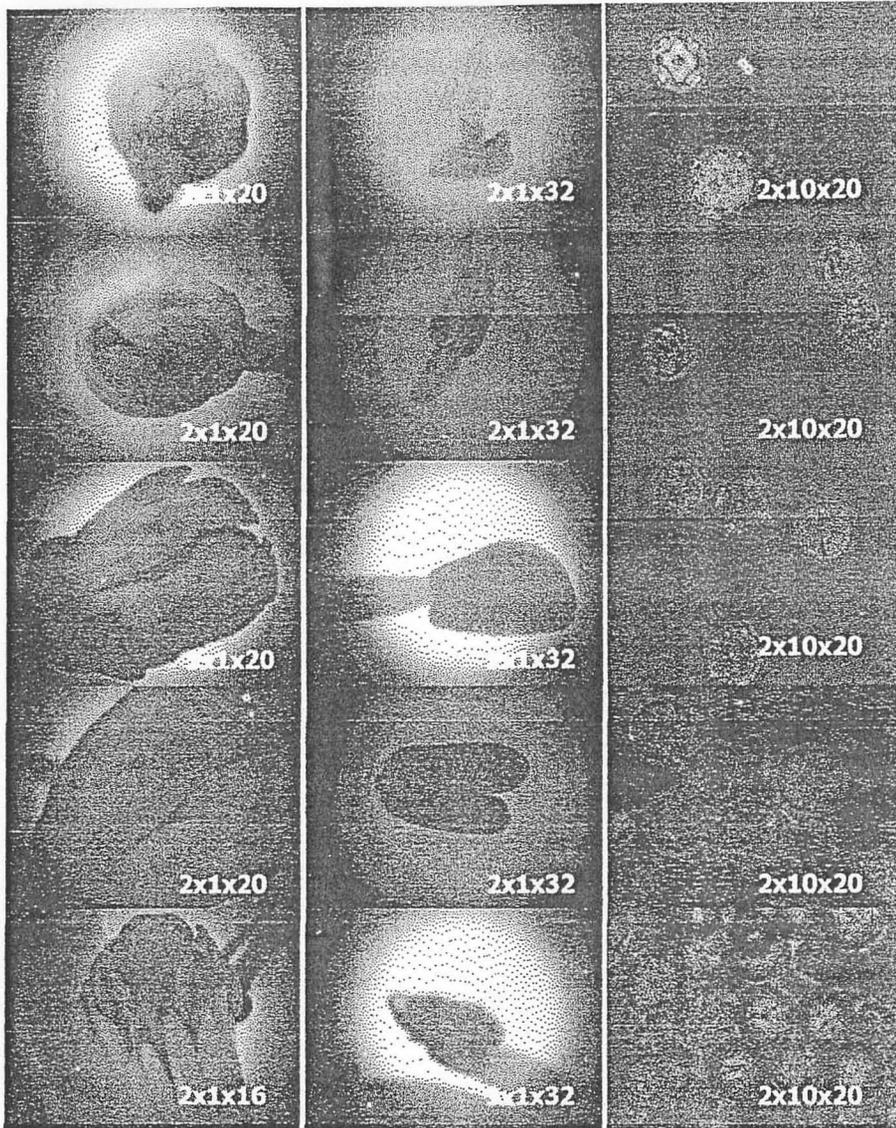
Hubungan antara ukuran bunga dengan perkembangan mikrospora dapat dilihat pada gambar 1, 2 dan 3.



Gambar 1. Tahapan perkembangan antera dan mikrospora pada tanaman jeruk keprok Garut 3 (Atas = ukuran mahkota kuncup bunga 2 mm; Tengah = ukuran mahkota kuncup bunga 5 mm; Bawah = ukuran mahkota kuncup bunga 6 mm)



Gambar 2. Tahapan perkembangan antera dan mikrospora pada tanaman jeruk keprok Garut 2 (Atas = ukuran mahkota kuncup bunga 3 mm; Tengah = ukuran mahkota kuncup bunga 4 mm; Bawah = ukuran mahkota kuncup bunga 6 mm)



Gambar 3. Tahapan perkembangan antera dan mikrospora pada tanaman jeruk keprok garut 1 (Baris 1 = ukuran mahkota kuncup bunga 2 mm; Baris 2 = ukuran mahkota kuncup bunga 3 mm; Baris 3 = ukuran mahkota kuncup bunga 4 mm; Baris 4 = ukuran mahkota kuncup bunga 5 mm; Baris 5 = ukuran mahkota kuncup bunga 6 mm)

Dari hasil pengamatan ini kuncup bunga yang berukuran kelopak 2 mm dan mahkota 5-6 mm digunakan sebagai sumber antera yang dikulturkan pada media induksi kalus.

#### **Induksi pembentukan kalus dari kultur antera jeruk keprok**

Kultur antera dengan bahan tanaman yang dicoba adalah kuncup bunga berukuran mahkota bunga 5-6 mm yang merupakan pertumbuhan bunga dengan persentase mikrospora berinti satu yang paling banyak.

Bahan tanaman antera jeruk keprok dicoba dikulturkan pada formulasi media N6 dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D, NAA, dan BA. Formulasi media ini merupakan formulasi media yang berhasil menginduksi pembentukan kalus haploid pada jeruk manis (Germana *et al.*, 2003). Formulasi media lain yang dicoba adalah media dasar

MS dengan penambahan 2,4-D, BA dan casein hidrolisat yang berhasil menginduksi pembentukan kalus pada beberapa jenis padi (Husni, 2004).

Pada pengkulturan terlihat respon antera pada formulasi yang digunakan tidak begitu bagus terlihat dari tingginya persentase antera yang tidak berespon (81,87) dan kematian antera yang mencapai 58,82% (Tabel 2). Formulasi media N6 (Germana *et al.*, 2003) memberikan respon yang lebih baik dibandingkan penggunaan formulasi media MS. Meskipun lebih baik daripada media MS dengan penambahan 2,4-D dan BA, respon antera masih sangat rendah hanya kurang dari 10% yang berespon positif yang dicirikan dengan pembengkakan antera. Penggunaan media MS dengan 2,4-D dan BA responnya negatif dimana lebih dari 50% antera yang dikulturkan mengalami pencoklatan dan akhirnya mati.

Tabel 2. Respon antera jeruk Keprok1 pada formulasi media induksi kalus, 8 minggu setelah kultur

Formulasi media	∑ antera dikulturkan	Respon antera pada formulasi media induksi kalus		
		Membengkak	Tetap	Mati
N6 + AK	171	9.36(16/171)	81.87(140/171)	8.77(15/171)
Ali 1	68	0	41.18(28/68)	58.82(40/68)
Total antera	239	6.69(16/239)	70.29(168/239)	23.01(55/239)

Keterangan: N6+A = N6+Air kelapa 500ml/l+Casein hydrolisat 500mg/l+Glisin 2 mg/l+Sukrosa 3%+NAA 0,02+2,4D0,02+kinetin 1 mg/l+BA 0,5 mg/l (Germana *et al.*, 2003)

ALII = MS + 2,4 D+BA+casein hidrolisat

Pada pengkulturan antera berikutnya (seri 2), antera dikulturkan pada formulasi media media dasar N6, MS dan MT dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D atau BA, media N6+AK tetap digunakan sebagai kontrol karena formulasi media ini sudah dipublikasi sebagai media untuk induksi kalus haploid jeruk (Germana *et al.*, 2003).

Penggunaan formulasi media pada antera jeruk keprok2 yang sudah disimpan selama 3 hari pada pendingin dengan temperatur  $\pm 10^{\circ}\text{C}$  memberikan hasil yang lebih menjanjikan dibandingkan pengkulturan sebelumnya (Tabel 3). Pada kultur ini 41,51% dari seluruh antera yang dikulturkan membengkak (Gambar 4) meskipun antera yang mati relatif tinggi tetapi tidak setinggi pada pengkulturan sebelumnya.

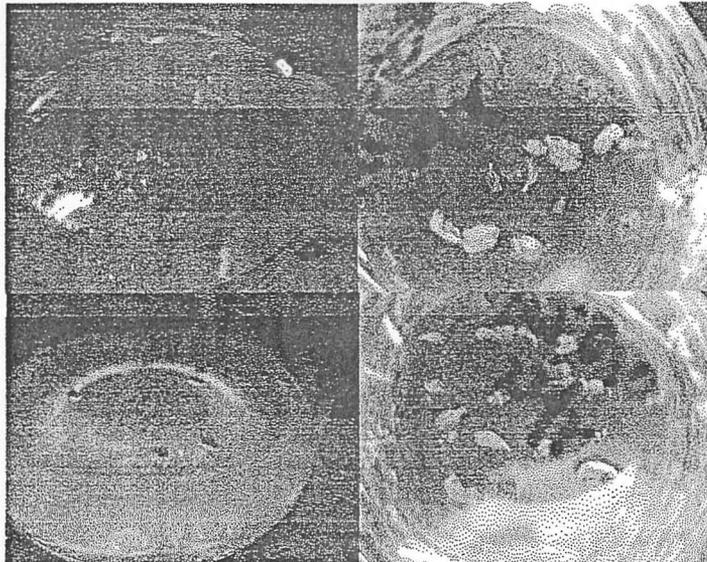
Tabel 3. Respon antera jeruk Keprok Garut 2 pada formulasi media induksi kalus

Formulasi media	∑ antera dikulturkan	% respon antera pada formulasi media induksi kalus		
		Membengkak	Tetap	Mati
N6 + AK	50	0	0	100 (50/50)
N62,4D40	Kontaminasi	Kontaminasi	Kontaminasi	Kontaminasi
N6 2,4D30	17	94,12(16/17)	0	5,88 (1/17)
N6 2,4D20	41	26,83(11/41)	0	73,17(30/41)
N6 2,4D10	Kontaminasi	Kontaminasi	Kontaminasi	Kontaminasi
MTEM500B3	41	0	60,96(25/41)	39,02(16/41)
MSVMW B3	65	0	38,46(25/65)	61,54(40/65)
MS24 D0	79	24,05(19/79)	0	75,95(60/79)
MS24 D10	64	100 (64/64)	0	0
MS24 D20	103	80,58(83/103)	0	19,42 (20/103)
MS24 D30	36	0	0	100 (36/36)
MS24 D40	22	100 (22/22)	0	0
Total antera	518	41,51(215/518)	9,65(50/518)	48,84(253/518)

Keterangan: N6+A = N6+Air kelapa 500ml/l+Casein hydrolisat 500mg/l+Glisin 2 mg/l+Sukrosa 3%+NAA 0,02+2,4D0,02+kinetin 1 mg/l+BA 0,5 mg/l (Germana *et al.*, 2003)

MTEM500B3 = MT+Ekktrak malt 500mg/l+BA 3mg/l (Husni, 2008)

MSVMWB3 = MS+Vitamin MW+Ekktrak malt 500mg/l+BA 3mg/l (Husni, 2008)



Gambar 4. Respon positif antera pada formulasi media dengan penambahan 2,4-D, 8 minggu setelah kultur

Media dasar MS menunjukkan hasil lebih baik dibanding penggunaan media dasar N6. Media dasar MS lebih dapat mempertahankan daya hidup antera dibanding media dasar N6. Penambahan 2,4-D pada konsentrasi tinggi dapat meningkatkan respon positif dari antera yang dikulturkan, dimana antera yang dikulturkan mulai membengkak dan warnanya tidak mencoklat. Formulasi media yang memberikan respon terbaik adalah MS dengan penambahan 2,4-D 10 dan 40 mg /l dimana seluruh antera yang dikulturkan membengkak. Penambahan zat pengatur tumbuh pada media dasar N6 juga mampu meningkatkan respon positif antera.

Penggunaan formulasi media yang baik digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus diploid dengan dengan penambahan vitamin MW dan BA 3 mg/l, pada eksplan nuselus dan embrio jeruk siam (Husni, 2008) ternyata tidak mampu menginduksi pembentukan kalus jeruk dengan eksplan antera bahkan kematian antera hampir sama banyak dengan antera yang hidup tetapi tidak ada antera yang berespon positif.

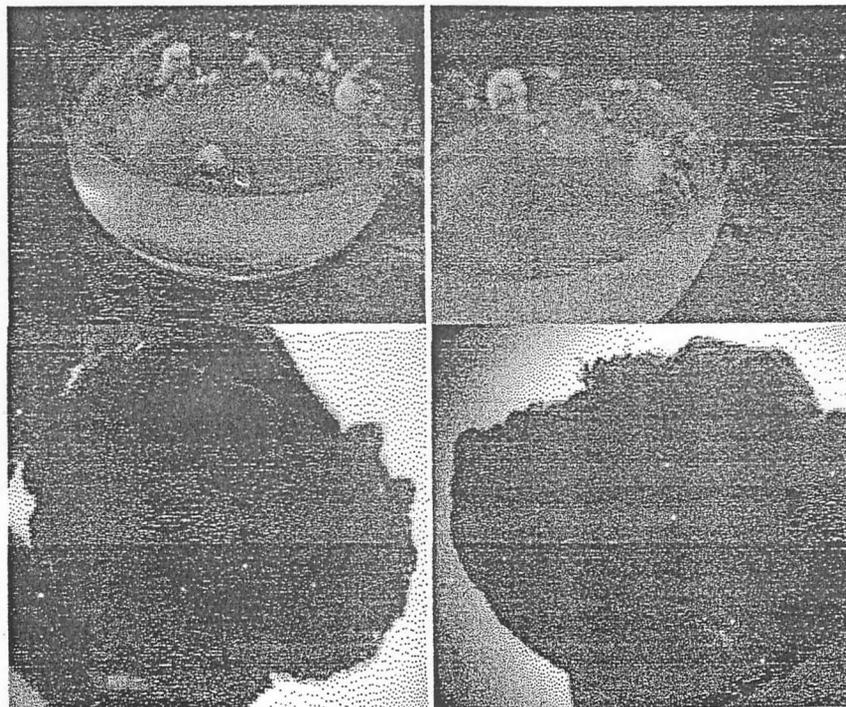
Tabel 4. Respon antera jeruk Keprok pada formulasi media dasar MS dan MT dengan penambahan 2,4 D atau pikloram, 6 minggu setelah tanam

Formulasi media	∑ antera dikulturkan	% respon antera pada formulasi media induksi kalus			
		Kalus	Membengkak (%)	Tetap	Mati
MS2.4-D10	30	0	70.00(21/30)	30.00(9/30)	0
MS2.4-D20	30	0	6.67(2/30)	53.33(16/30)	40.00(12/30)
MS.2-4-D30	30	0	20.00(6/30)	46.67(14/30)	33.33(10/30)
MS Pikloram10	30	0	43.33(13/30)	26.67(2/30)	50.00(15/30)
MS Pikloram20	30	0	40.00(12/30)	30.00(9/30)	30.00(9/30)
MS Pikloram30	30	0	30.00(9/30)	13.33(4/30)	56.67(17/30)
MT2.4-D10	30	0	53.33(16/30)	23.33(7/30)	23.33(7/30)
MT2.4-D20	30	0	26.67(8/30)	40.00(12/30)	33.33(10/30)
MT.2-4-D30	30	3.33(1/30)	13.33(4/30)	16.67(5/30)	66.67(20/30)
MT Pikloram10	30	0	36.67(11/30)	26.67(8/30)	36.67(11/30)
MT Pikloram20	30	0	30.00(9/30)	36.67(11/30)	33.33(10/30)
MT Pikloram30	30	6.67(2/30)	10.00(3/30)	20.00(6/30)	63.33(19/30)
Total antera	360	0.83(3/360)	31.67(114/360)	28.61(103/360)	38.89(140/360)

Berdasarkan hasil pengkulturan antera seri 2, antera dikulturkan pada formulasi media dasar MS dan MT yang ditambah dengan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan pikloram (seri 3). Pikloram merupakan zat pengatur tumbuh kelompok auksin tetapi aktifitasnya tidak sekuat 2,4-D. Pada kultur kelapa sawit penambahan pikloram pada media kultur mampu menginduksi pembentukan kalus (Mariska *et al.*, 2009)

Pada Tabel 4 terlihat bahwa respon antera jeruk keprok lebih baik pada media dasar MT dimana pada penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D 30 mg/l dan pikloram 30 mg/l berhasil menginduksi pembentukan kalus (Gambar 5). Pada formulasi media ini, kematian antera tertinggi 66.67%, hasil ini lebih rendah dari kematian antera dari pengkulturan sebelumnya. Penggunaan pikloram juga relatif sama efektifnya dengan 2,4-D, dimana pada konsentrasi yang sama mampu menginduksi pembentukan kalus.

Berdasarkan hasil kultur antera yang telah dilakukan, maka untuk penelitian selanjutnya yang ditujukan untuk memperoleh kalus dengan populasi sel haploid dilakukan pada media dasar MT dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4 D atau pikloram 30 mg/l.



Gambar 5. Kalus yang baru terbentuk pada antera jeruk keprok Batu 55

#### KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

- Ukuran kuncup bunga dengan persentase mikrospora berinti tunggal tertinggi diperoleh dari kuncup bunga dengan perbandingan kelopak:mahkota = 2:6 mm
- Formulasi media yang dapat menginduksi pembentukan kalus jeruk keprok Batu 55 adalah media dasar MT dengan penambahan pikloram atau 2,4-D 30 mg/l

#### DAFTAR PUSTAKA

Bachi, O. 1940. Observation citological citrus, i. numero de cromosomas de algunas especies y variedades. Journal of Agronomi (Piracicaba) 3: 249-258

- Esen, A., R.K. Soost. 1972. Tetraploid progenies from 2x x 4x crosses of Citrus and their origin. *Journal of American Society of Horticultural Sciences*. 97:410-414.
- Falavigna, A., G.L. Rotino. 2005. Parthenocarpy, a strategy for fruit development under adverse environmental conditions. Makalah dalam Seminar Peranan Bioteknologi dalam perbaikan tanaman untuk cekaman abiotik. Bogor. 9 h.
- Germana, M.A. 2003. Haploids and double haploids in Citrus ssp. Pp. 303-308. *In* M Maluszynski, K J Kasha, B P Forster and I Szarejko (Eds.). *DoubleHaploid Production in Crop Plants A manual*. Kluwer Academic Publishers.
- Gmitter, F.G., X. Ling. 1991. Embryogenesis in vitro and nonchimeric tetraploid plant recovery from undeveloped citrus ovules treated with colchicines. *J. Amer.Soc. Hort.Sci.* 116: 317-321.
- Husni, A., I. Mariska, Hobir. 2004. Fusi Protoplas dan regenerasi protoplas hasil fusi antara *Solanum melongena* dengan *S. torvum*. *Jurnal Bioteknologi Pertanian* 9(1):1-8.
- Husni, A. 2008. Penerapan teknologi fusi protoplas dalam perakitan jeruk lokal tipe baru. *Laporan Kemajuan Penelitian Riset Insentif tahun 2007*. 38 h.
- Hutabarat, B., A. Setyanto. 2007. Komoditas jeruk Indonesia dipersimpangan jalan pasar domestik dan internasional. Pusat Analisis Social Ekonomi dan Kebijakan Pertanian (PSE-KP), Departemen Pertanian. Makalah dalam Seminar Nasional Jeruk 2007, Yogyakarta, 13-14 juni 2007. 30 h.
- Kaltchuk-Santos, E., J.E. Mariath, E. Mundstock, C-Y Hu, M.H. Bodanese-Zanettini. 1997. Cytological analysis of early microspore divisions and embryo formation in cultured soybean anthers. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* (49): 107-115.
- Ling, J.T., M. Iwamasa, N. Nito. 1988. Plantlet regeneration by anther culture of Calamondin (*Citrus madurensis* Lour) *Proc. Sixth Int. Citrus Cong. I*: 251-256.
- Mariska, I., M. Kosmiatin, S. Hutami, S. Rahayu, D. Sukmadjaja, S. Utami. 2009. Kultur Jaringan Kelapa Sawit. Laporan Hasil Penelitian Kerjasama BB BIOGEN – PT Matahari Kahuripan Indonesia.
- Millam, S., L.A. Payne, G.R. Mackay. 1995. The integration of protoplast fusion, derived material into a potato breeding programme; a review of progress and problems. *Euphytica* 85:451-455.
- Mooney, P., M. Atson, A. Harty. 1997. Developing New Seedless Citrus Triploid Cultivars. HortResearch Publication. The Horticulture and Food Research Institute of New Zealand Ltd.
- Ollitrault, P., F. Vanel, Y. Froelicher, D. Dambier. 2000. Creation of Triploid citrus hybrids by electrofusion of haploid and diploid prtoplasts. *In* Proceedings of the First international citrus biotechnology symposium. Eilat, Israel. 191-196.
- Purwito, A. 1999. Fusi protoplas intra dan interspecies pada tanaman kentang. Disertasi Program Pasca Sarjana. IPB. Bogor.
- Usman, M., T. Safed, M.M. Khan, B. Fatima. 2006. Occurrence of Spontaneous Polyploids in Citrus. *Hort. Sci. (Prague)* 33 (3): 124-129.