

KONSERVASI PLASMA NUTFAH JERUK BESAR (*Citrus grandis* L. Osbeck) SECARA *IN VITRO*
*In Vitro Conservation of Citrus (*Citrus grandis* L. Osbeck) Germplasm*

Gani Jawak¹, Bambang S Purwoko² dan Iswari S Dewi³

¹ Mahasiswa Departemen Agronomi dan Hortikultura

² Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura

³ Staf Peneliti BB-Biogen, Cimanggu-Bogor

Abstract

*The objective of the research was to determine media most suited for citrus (*Citrus grandis* L. Osbeck) conservation. The research was conducted at Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Bogor, from February until August 2008. The research consisted of two experiments. First experiment used Nambangan as mother plant. Treatment consisted of several concentrations of mannitol (0 g/l, 20 g/l, 40 g/l and 60 g/l) and several concentrations of paclobutrazol (0 mg/l, 1 mg/l, 3mg/l, 5 mg/l). The second experiment used Srinjanya as mother plant. Treatment consisted of several concentrations of sorbitol (0 g/l, 20 g/l, 40 g/l and 60 g/l) and several concentrations of ancymidol (0 mg/l, 1 mg/l, 3 mg/l and 5 mg/l). The treatment were arranged in a completely randomized design with three replications. The result showed that mannitol 20 g/l could be used to conserve Nambangan and sorbitol 40 mg/l could be used to conserve Srinjanya.*

Keyword: conservation, in vitro, Citrus grandis, minimal growth

PENDAHULUAN

Jeruk besar (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) merupakan salah satu jenis buah-buahan yang ada di Indonesia yang harus dikembangkan dan dilestarikan. Sampai saat ini pengusahaan jeruk besar secara komersial belum banyak dilakukan dan belum berorientasi pada pasar ekspor. Pengusahaan umumnya dilakukan sebagai tanaman pekarangan. Beberapa wilayah sentra produksi jeruk besar di Indonesia adalah Magetan dan Sumedang (Setiawan, 1993)

Tanaman jeruk besar tumbuh dengan baik di dataran rendah tropika dan di daerah subtropika dengan ketinggian kurang dari 400 m (Niyomdham, 1997). Buahnya banyak mengandung vitamin C dan rasanya segar dan manis. Cairan buahnya mengandung zat kimia bioflavonoid yang penting untuk mencegah terjadinya pendarahan pada pembuluh nadi dan dapat mengurangi memar pada luka. Kandungan per 100 g buah jeruk besar terdiri atas 90.3 g air, 0.3 g mineral, 0.5 g protein, 0.3 g lemak, 8.5 g karbohidrat, 38 k.kal, 37 mg kalsium, 49 SI vitamin A, 0.06 mg vitamin B₁, 0.04 mg vitamin B₂, 0.4 mg niasin, 105 mg vitamin C, 0.2 mg zat besi, 120 µg karoten dan naringin (Niyomdham, 1997; Ara *et al.*, 2008).

Penguasaan teknik-teknik pemuliaan tanaman jeruk besar secara tepat, pengetahuan tentang sifat genetik dan ketersediaan plasma nutfah belum banyak diketahui. Konservasi plasma nutfah merupakan salah satu kegiatan yang perlu dilakukan untuk mencegah terjadinya erosi genetik dan hilangnya suatu jenis tanaman. Muhammad *et al.* (2003) mengatakan bahwa erosi genetik juga dapat terjadi karena adanya keseragaman sifat genetik dan ketidaktahanan varietas tanaman budidayanya terhadap serangan patogen.

Konservasi plasma nutfah menurut Wattimena dan Mattjik (1992) dapat dilakukan secara in-situ (konservasi di dalam habitat aslinya) dan secara ex-situ (konservasi tanaman di luar habitat aslinya) serta konservasi secara *in vitro*. Menurut Dodds dan Roberts (1987) konservasi plasma nutfah dapat dilakukan dengan dua cara yaitu konservasi secara konvensional dengan teknik budidaya yang umum dan konservasi secara *in vitro*. Menurut Withers dan Williams (1985) konservasi tanaman secara *in vitro* dapat dilakukan dengan menggunakan perlakuan suhu rendah, osmotikum dan retardan.

Keberhasilan konservasi plasma nutfah dengan osmotikum dan retardan sangat tergantung pada komposisi media yang digunakan baik itu jenis bahan kimia maupun konsentrasi yang digunakan. Menurut Susilawati (1998) perlakuan media MS0 + Manitol 40 g/l dapat digunakan untuk konservasi ubi jalar secara *in vitro* sedangkan media MS0 + paclobutrazol 0.1 ppm tidak dapat digunakan untuk konservasi ubi jalar karena konsentrasinya terlalu rendah. Perlakuan MS0 + ancymidol 5 ppm pada penyimpanan *in vitro* ubi jalar tidak dapat digunakan sebagai media konservasi (Roostika dan Sunarlim, 2001).

Beberapa keuntungan yang dapat diperoleh dengan pelestarian tanaman secara *in vitro* adalah kemudahan dalam penyimpanan, menghemat pemakaian lahan, tenaga dan biaya, erosi genetik dapat dicegah, mempermudah pengiriman dan merupakan salah satu alternatif untuk melestarikan benih yang mudah rusak, bebas dari gangguan hama penyakit dan gangguan alam lainnya (Sutarto *et al.*, 2003; Leunufna, 2007).

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan pengaruh osmotikum dan retardan terhadap konservasi jeruk besar dan mendapatkan media yang paling sesuai dalam mengkonservasi plasma nutfah jeruk besar jangka waktu menengah.

Adapun hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. Pemberian retardan dan osmotikum pada tanaman dapat menghambat pertumbuhan dan memperlama siklus sub kultur.
2. Pertumbuhan tanaman akan berbeda pada berbagai konsentrasi retardan dan osmotikum.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Sel, Kelompok Peneliti Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Cimanggu, Bogor. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Februari sampai dengan Agustus 2008.

Bahan dan Alat. Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *mother plant* jeruk besar varietas Nambangan dan Srinjanya. Media yang digunakan adalah media dasar Murashige-Skoog (MS), Disinfektan yang digunakan untuk sterilisasi adalah etanol 70% dan clorox 20%. Bahan kimia lain yang

digunakan ialah Manitol, Paclobutrazol, Ancymidol, Sorbitol, dan PhytigelTM (SIGMA). Alat-alat yang digunakan ialah *autoclave*, *laminar air flow cabinet*, dan alat pendukung lainnya.

Metode. Rancangan percobaan yang digunakan untuk semua percobaan adalah rancangan acak lengkap (RAL) faktor tunggal berupa perlakuan jenis media konservasi. Data dianalisis dengan uji F. Jika perlakuan menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap hasil pengamatan maka dilakukan analisis uji lanjut DMRT pada taraf nyata 5%.

Model rancangan untuk percobaan pertama dan kedua adalah :

$$Y_{ij} = \mu + P_i + \varepsilon_{ij}$$

Dimana :

Y_{ij} = Respon pengamatan terhadap jenis media ke-i ulangan ke-j

μ = Nilai tengah umum

P_i = Pengaruh perlakuan jenis media ke-i terhadap pertumbuhan tanaman

ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan terhadap pertumbuhan tanaman dari jenis media ke-i ulangan ke-j

Percobaan ini terdiri atas dua tahap, percobaan tahap pertama menggunakan kultivar Nambangan yang terdiri atas dua percobaan. Percobaan pertama terdiri atas perlakuan media MS + Manitol dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60 g/l dan percobaan kedua terdiri atas perlakuan media MS + Paclobutrazol dengan konsentrasi 0, 1, 3, 5 mg/L. Percobaan tahap kedua menggunakan kultivar Srinjanya yang terdiri atas dua percobaan. Percobaan ketiga terdiri atas perlakuan media MS + ancymidol dengan konsentrasi 0, 1, 3, 5 mg/L dan percobaan keempat terdiri atas perlakuan media MS + sorbitol dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60 g/l. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Setiap satuan percobaan terdiri atas 3 eksplan. Setiap percobaan terdiri atas 12 satuan percobaan.

Pelaksanaan Percobaan

Pembuatan Media. Media yang digunakan berupa media MS. Metode pembuatan media MS untuk satu liter diawali dengan pemipetan hara makro, mikro, Fe-EDTA, myo-inositol, thiamine- HCl, asam nikotinat dan glisin berturut-turut dari masing-masing stok. Sukrosa ditambahkan sebanyak 30 g/L. Bahan-bahan tersebut diaduk dengan *magnetic stirrer* setelah dilarutkan dalam air steril sebanyak 900 ml. Setelah larut baru diukur pH-nya. Diusahakan pH media mencapai 5.8 dengan penambahan 0.1 N KOH dan 0.1 N HCl. Kemudian ditambahkan 3 g PhytigelTM sebagai pematid dan dimasukkan masing-masing perlakuan manitol, paclobutrazol, ancymidol atau sorbitol sesuai dengan konsentrasi yang ditentukan. Larutan ditera sampai 1000 ml dengan air steril sebelum larutan diaduk dengan *magnetic stirrer* dan dipanaskan dengan *hot plate*. Larutan dimasukkan ke dalam botol/tabung kultur dengan dispenser agar manual setelah agarnya larut. Tabung/botol kultur yang sudah diisi dengan media ditutup dengan plastik sebelum diautoklaf. Setelah diautoklaf tabung/botol kultur disimpan dalam rak.

Penanaman Eksplan. Penanaman eksplan dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet*. Setiap eksplan berasal dari batang tanaman hasil perbanyakan *in vitro* (*mother plant*). Eksplan yang digunakan adalah pucuk tanaman (*shoot culture*) dengan empat daun. Eksplan ditanam pada media konservasi dengan menggunakan pinset. Masing-masing kultur diisi dengan tiga eksplan. Setelah eksplan selesai ditanam, tabung kultur ditutup dengan *aluminium foil* dan disimpan di ruang berpendingin dalam rak yang diberi penerangan

lampu 800 lux selama 16 jam pada jarak 30 cm di atas tabung dan suhu 25-27°C.

Pengamatan. Pengamatan kultur diamati dua minggu sekali selama enam bulan untuk kultivar Nambangan dan selama empat bulan untuk kultivar Srinjanya. Adapun peubah yang diamati adalah sebagai berikut:

- Tinggi tanaman: Tinggi tanaman diukur dari permukaan media sampai ke titik tumbuh eksplan.
- Jumlah akar: Akar yang dihitung adalah akar yang tumbuh langsung dari eksplan yang dikulturkan.
- Jumlah tunas: Ada tidaknya tunas (cabang) pada eksplan tersebut diamati dan dihitung setiap dua minggu sekali
- Jumlah daun: pertambahan daun dihitung jumlahnya setiap dua minggu sekali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Data dengan interval empat minggu yang meliputi peubah tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah tunas, dan jumlah akar diolah secara statistik. Untuk hasil sidik ragam tinggi tanaman percobaan sorbitol, jumlah daun percobaan manitol, paclobutrazol dan ancymidol, jumlah tunas dan jumlah akar semua percobaan, data ditransformasi dengan $(x + 0.5)^{1/2}$ karena koefisien keragamannya tinggi.

Tinggi tanaman

Peubah tinggi tanaman yang diamati pada percobaan perlakuan manitol pada berbagai taraf yang diberikan sampai umur 8 MST menunjukkan pengaruh yang nyata, pada umur 12 MST sampai 20 MST menunjukkan pengaruh yang sangat nyata, dan pada umur 24 MST setiap perlakuan yang diberikan berpengaruh nyata. Perlakuan sorbitol pada berbagai taraf menunjukkan adanya pengaruh yang nyata pada umur 4 MST dan pengaruh yang sangat nyata pada umur 8-16 MST dan pada umur 20 MST perlakuan yang diberikan menunjukkan pengaruh yang nyata (Tabel 1). Pada percobaan perlakuan paclobutrazol dan ancymidol pada umumnya menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap peubah tinggi tanaman sampai dengan akhir pengamatan.

Jumlah daun

Percobaan perlakuan manitol pada berbagai taraf menunjukkan pengaruh yang sangat nyata terhadap peubah jumlah daun sampai dengan akhir pengamatan dan percobaan perlakuan sorbitol memberikan pengaruh yang nyata pada umur 4 MST dan 20 MST sedangkan pada umur 8-16 MST memberikan pengaruh yang sangat nyata (Tabel 2). Percobaan perlakuan paclobutrazol dan ancymidol untuk setiap taraf yang dicobakan tidak menunjukkan adanya pengaruh yang nyata mulai dari tanaman berumur 4 MST hingga akhir pengamatan (Tabel 2).

Jumlah tunas

Percobaan perlakuan manitol, paclobutrazol, ancymidol dan sorbitol pada berbagai taraf tidak menunjukkan adanya pengaruh nyata terhadap peubah jumlah tunas. Pada percobaan perlakuan manitol tunas baru muncul pada saat umur 16 MST (perlakuan manitol 40 g/l dan kontrol). Demikian halnya dengan percobaan perlakuan ancymidol, dimana tunas muncul pada saat tanaman berumur 12 MST. Pada percobaan perlakuan paclobutrazol dan sorbitol tunas sudah muncul saat berumur 4 MST (Tabel 3)

Tabel 1. Nilai Rata-rata Tinggi Tanaman Kultivar Nambangan dan Srinjanya pada Berbagai Media Perlakuan

Perlakuan	Umur (MST)					
	4	8	12	16	20	24
Kultivar Nambangan						
MSO	1.20 ^a	1.13 ^a	1.19 ^a	1.32 ^a	1.44 ^a	1.49 ^a
Manitol 20 g/l	0.48 ^b	0.50 ^b	0.50 ^b	0.50 ^b	0.54 ^b	0.65 ^b
Manitol 40 g/l	0.48 ^b	0.48 ^b	0.48 ^b	0.48 ^b	0.48 ^b	0.54 ^b
Manitol 60 g/l	0.60 ^b	0.61 ^b	0.61 ^b	0.64 ^b	0.64 ^b	0.90 ^b
Kultivar Nambangan						
MSO	1.00 ^a	1.03 ^a	1.11 ^{ab+}	1.14 ^{ab+}	1.15	0.85 ^a
Paclobutrazol 1 mg/l	1.17 ^a	1.28 ^a	1.42 ^{a+}	1.59 ^{a+}	1.65	1.90 ^a
Paclobutrazol 3 mg/l	0.79 ^a	0.86 ^a	0.89 ^{b+}	0.89 ^{b+}	0.92	0.96 ^a
Paclobutrazol 5 mg/l	1.00 ^a	1.12 ^a	1.05 ^{ab+}	0.98 ^{ab+}	1.02	0.81 ^a
Kultivar Srinjanya.....						
MSO	1.11 ^a	1.29 ^a	1.54 ^a	1.60 ^a	1.65 ^a	
Sorbitol 20 g/l	0.55 ^{ab}	0.83 ^{ab}	0.94 ^{ab}	1.05 ^{ab}	1.53 ^{ab}	
Sorbitol 40 g/l	0.53 ^{bc}	0.53 ^{bc}	0.68 ^{bc}	0.73 ^{bc}	0.45 ^b	
Sorbitol 60 g/l	0.22 ^c	0.22 ^c	0.22 ^c	0.22 ^c	0.22 ^b	
Kultivar Srinjanya.....						
MSO	0.40 ^a	0.52 ^{b+}	0.58 ^a	0.73 ^a	0.76	
Ancymidol 1 mg/l	0.73 ^a	1.03 ^{a+}	1.06 ^a	1.11 ^a	1.14	
Ancymidol 3 mg/l	0.75 ^a	0.91 ^{ab+}	1.00 ^a	1.12 ^a	1.20	
Ancymidol 5 mg/l	0.51 ^a	0.69 ^{ab+}	0.76 ^a	0.83 ^a	0.47	

Keterangan : angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada Minggu yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%.

+ = berbeda nyata pada uji F taraf 10%.

: data tinggi tanaman percobaan sorbitol di transformasi dengan $(x + 0.5)^{1/2}$

Tabel 2. Nilai Rata-rata Pertambahan Jumlah Daun Kultivar Nambangan dan Srinjanya pada Berbagai Media Perlakuan

Perlakuan	Umur (MST)					
	4	8	12	16	20	24
Kultivar Nambangan.....						
MSO	2.00 ^a	1.99 ^a	2.22 ^a	2.44 ^a	2.89 ^a	2.66 ^a
Manitol 20 g/l	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b
Manitol 40 g/l	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b
Manitol 60 g/l	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b
Kultivar Nambangan.....						
MSO	1.33 ^a	1.33 ^a	0.77 ^a	1.00 ^a	1.00 ^a	1.25 ^a
Paclobutrazol 1 mg/l	1.66 ^a	2.00 ^a	2.67 ^a	2.67 ^a	2.50 ^a	2.50 ^a
Paclobutrazol 3 mg/l	1.11 ^a	1.44 ^a	1.55 ^a	1.55 ^a	1.66 ^a	2.67 ^a
Paclobutrazol 5 mg/l	1.33 ^a	0.67 ^a	0.83 ^a	0.66 ^a	0.33 ^a	0.00 ^a
Kultivar Srinjanya.....						
MSO	5.77 ^a	8.44 ^a	9.33 ^a	10.00 ^a	10.00 ^a	
Sorbitol 20 g/l	4.22 ^b	4.44 ^b	5.11 ^b	6.00 ^b	8.67 ^a	
Sorbitol 40 g/l	4.00 ^b	4.11 ^b	4.11 ^b	4.55 ^b	4.67 ^b	
Sorbitol 60 g/l	4.00 ^b	4.00 ^b	4.00 ^b	4.11 ^b	4.22 ^b	
Kultivar Srinjanya.....						
MSO	1.22 ^{a+}	2.33 ^a	2.89 ^a	4.00 ^a	4.11 ^a	
Ancymidol 1mg/l	1.11 ^{ab+}	2.55 ^a	3.11 ^a	4.55 ^a	5.55 ^a	
Ancymidol 3 mg/l	0.55 ^{b+}	2.22 ^a	2.77 ^a	4.11 ^a	4.44 ^a	
Ancymidol 5 mg/l	1.00 ^{ab+}	1.77 ^a	2.44 ^a	3.00 ^a	2.83 ^a	

Keterangan : angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada minggu yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%.

+ = berbeda nyat pada uji F taraf 10%.

: data jumlah daun percobaan manitol, paclobutrazol dan ancymidol di transformasi dengan $(x + 0.5)^{1/2}$

Tabel 3. Nilai Rata-rata Pertambahan Jumlah Tunas Kultivar Nambangan dan Srinjanya pada Berbagai Media Perlakuan

Perlakuan	Umur (MST)					
	4	8	12	16	20	24
Kultivar Nambangan.....						
MSO	-	-	-	0.7 ^a	1.2 ^a	1.2 ^a
Manitol 20 g/l	-	-	-	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a
Manitol 40 g/l	-	-	-	0.3 ^a	0.7 ^a	0.7 ^a
Manitol 60 g/l	-	-	-	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a
Kultivar Nambangan.....						
MSO	0.3 ^a	0.3 ^a	0.4 ^a	0.7 ^a	0.7 ^a	0.8 ^a
Paclobutrazol 1 mg/l	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	0.3 ^a	0.5 ^a
Paclobutrazol 3 mg/l	0.0 ^a	0.3 ^a				
Paclobutrazol 5 mg/l	0.0 ^a	0.0 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.5 ^a
Kultivar Srinjanya.....						
MSO	0.3 ^a	0.3 ^a	0.5 ^a	0.5 ^a	0.5 ^a	
Sorbitol 20 g/l	0.3 ^a	0.6 ^a	2.0 ^a	2.0 ^a	2.0 ^a	
Sorbitol 40 g/l	0.0 ^a	0.0 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.0 ^a	
Sorbitol 60 g/l	0.0 ^a					
Kultivar Srinjanya.....						
MSO	-	-	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	
Ancymidol 1 mg/l	-	-	0.6 ^a	0.6 ^a	0.6 ^a	
Ancymidol 3 mg/l	-	-	0.0 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	
Ancymidol 5 mg/l	-	-	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	

Keterangan : angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada minggu yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%.

: semua data ditransformasi dengan $(x + 0.5)^{1/2}$

-- = pertambahan tunas adalah nol

Tabel 4. Nilai Rata-rata Jumlah Akar Kultivar Nambangan dan Srinjanya pada Berbagai Media Perlakuan

Perlakuan	Umur (MST)					
	4	8	12	16	20	24
Kultivar Nambangan.....						
MSO	-	-	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a
Manitol 20 g/l	-	-	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a
Manitol 40 g/l	-	-	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a
Manitol 60 g/l	-	-	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a
Kultivar Nambangan.....						
MSO	-	0.0 ^a				
Paclobutrazol 1 mg/l	-	1.0 ^a				
Paclobutrazol 3 mg/l	-	0.0 ^a				
Paclobutrazol 5 mg/l	-	0.0 ^a				
Kultivar Srinjanya.....						
MSO	0.6 ^a	0.7 ^a	0.9 ^a	0.9 ^a	0.9 ^a	
Sorbitol 20 g/l	0.0 ^b					
Sorbitol 40 g/l	0.0 ^b					
Sorbitol 60 g	0.0 ^b					
Kultivar Srinjanya.....						
MSO	0.3 ^a					
Ancymidol 1 mg/l	0.0 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	
Ancymidol 3 mg/l	0.0 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	
Ancymidol 5 mg/l	0.0 ^a	0.5 ^a	0.5 ^a	0.5 ^a	0.5 ^a	

Keterangan : angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada minggu yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%.

: semua data di transformasi dengan $(x + 0.5)^{1/2}$

-- = Tidak ada data

Jumlah akar

Pada Tabel 4 diperlihatkan bahwa perlakuan manitol, paclobutrazol dan ancymidol tidak menunjukkan adanya pengaruh yang nyata terhadap peubah jumlah akar. Percobaan perlakuan paclobutrazol menunjukkan

bahwa akar hanya muncul pada perlakuan paclobutrazol 1 mg/l saat tanaman berumur 8 MST dan perlakuan kontrol pada saat berumur 12 MST pada percobaan perlakuan manitol. Percobaan perlakuan sorbitol pembentukan akar hanya terjadi pada kontrol dimana akar sudah terbentuk saat tanaman berumur 4 MST dan mengalami peningkatan seiring dengan berjalannya waktu penyimpanan. Pada percobaan perlakuan sorbitol pada berbagai taraf menunjukkan adanya pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah akar (Tabel 4).

Pembahasan

Manitol dan sorbitol merupakan osmoregulator berkarbon enam ($C_6H_{14}O_6$). Perbedaan manitol dan sorbitol terletak pada rumus strukturnya dimana manitol dapat membentuk ikatan berbentuk cincin sedangkan sorbitol tidak dapat membentuk ikatan cincin. Pada umumnya osmoregulator ini memiliki fungsi yang sama pada media konservasi *in vitro* yaitu meningkatkan osmolaritas media sehingga tekanan osmotiknya akan semakin besar (Montgomery *et al.*, 1993; Buchanan *et al.*, 2006). Tekanan osmotik media yang semakin besar menyebabkan nutrisi akan mengalir sangat lambat ke dalam jaringan tanaman. Ketersediaan nutrisi yang minim dalam jaringan tanaman akan menurunkan laju pembelahan sel dan morfogenesis sel atau jaringan. Tekanan osmotik media yang tinggi akibat perlakuan MS0 + Manitol 20 g/l pada kultivar Nambangan dan perlakuan MS0 + Sorbitol 40 g/l pada kultivar Srinjanya mengakibatkan laju pembelahan sel dan morfogenesis sel atau jaringan lambat sehingga pertumbuhan tanaman menjadi terhambat. Laju pertumbuhan yang lambat akan memperlama siklus sub kultur. Dalam penyimpanan plasma nutfah siklus sub kultur akan berpengaruh terhadap lama penyimpanan. Semakin sering suatu tanaman di sub kultur maka biaya yang dibutuhkan juga akan semakin besar sehingga diharapkan dengan perlakuan MS0 + manitol 20 g/l pada kultivar Nambangan dan MS0 + sorbitol 40 g/l pada kultivar Srinjanya siklus subkultur jeruk besar dapat lebih dari satu tahun.

Pemberian osmoregulator manitol pada kultivar Nambangan dan sorbitol pada kultivar Srinjanya menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada tinggi tanaman dan jumlah daun sampai dengan akhir pengamatan dan tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan tunas dan sorbitol berpengaruh sangat nyata terhadap pembentukan akar. Pada umur 24 MST tanaman yang diberi perlakuan manitol 60 g/l hidup tinggal satu ulangan. Hal ini diduga disebabkan oleh tekanan osmotik yang semakin meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi manitol yang digunakan sehingga nutrisi yang tersedia sulit diambil tanaman.

Perlakuan sorbitol konsentrasi 20 g/l tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman sedangkan perlakuan manitol 20 g/l sudah nyata menekan pertumbuhan tanaman. Hal ini diduga selain disebabkan oleh struktur kimia yang berbeda juga karena kultivar yang digunakan juga berbeda. Berdasarkan analisis menggunakan jarak ketidakmiripan oleh Purwanto *et al.* (1998) kultivar Nambangan dan Srinjanya mempunyai karakter batang yang sama, karakter cabang, daun, biji dan buah berbeda namun kekerabatannya sangat dekat yang ditandai dengan jarak euclid < 2.000 . Sunarlim *et al.* (1999) menyatakan penyimpanan *in vitro* ubi jalar dengan konsentrasi manitol 40 g/l merupakan media yang paling sesuai untuk penyimpanan ubi jalar dan peningkatan konsentrasi manitol hingga 60 g/l meningkatkan persentase daun hijau tergantung varietas. Menurut Roostika *et al.* (2005) pada penyimpanan satu

bulan eksplan kentang hitam, pemberian osmoregulator manitol 4% menyebabkan pertumbuhan kultur menjadi terhambat yang ditandai dengan pendeknya kultur dan terbatasnya jumlah daun dan pada penyimpanan tiga bulan aplikasi manitol hingga 8 % menyebabkan kultur mati.

Ancymidol ($C_{15}H_{16}N_2O_2$) dan paclobutrazol ($C_{15}H_{20}ClNO_3$) merupakan senyawa retardan yang sering diaplikasikan sebagai zat penghambat pertumbuhan tanaman. Retardan merupakan senyawa yang bersifat anti giberelin dimana senyawa ini akan menghambat produksi giberelin dengan cara menghambat oksidasi *ent-kaurene* menjadi *ent-kaurenoic acid* dalam proses biosintesis giberelin dan menyebabkan pengurangan kecepatan dalam pembelahan sel tanpa menyebabkan keracunan sel (ICI, 1984). Retardan dapat menyebabkan terjadinya pemendekan ruas batang dan memperbesar diameter batang (Wahyuni *et al.*, 2002), meningkatkan butir hijau daun, meningkatkan ketegaran planlet, pembentukan umbi mikro, pengakaran dan memperpanjang masa dormansi umbi mikro (Wattimena, 1988)

Percobaan perlakuan paclobutrazol pada kultivar Nambangan dan ancymidol pada kultivar Srinjanya pada berbagai taraf tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata terhadap tinggi tanaman, kemungkinan hal ini disebabkan kandungan sitokinin endogen dalam jaringan tanaman cukup tinggi sehingga paclobutrazol yang diberikan belum cukup untuk menghambat aktivitas pembelahan sel. Sitokinin endogen berfungsi dalam morfogenesis sel atau jaringan dan pembelahan sel. Hasil penelitian ini bertolak belakang dengan penelitian Sunarlim *et al.* (2004) yang menyatakan bahwa pemberian paclobutrazol sampai dengan konsentrasi 5 mg/l pada tanaman gambili berpengaruh nyata terhadap peubah tinggi tanaman pada saat berumur tiga dan enam bulan dan dapat digunakan sebagai media konservasi. Menurut Lestari *et al.* (2001) perlakuan retardan ancymidol pada konsentrasi 5 mg/l pada tanaman nilam mampu untuk menghambat pertumbuhan tinggi tunas hingga umur 12 MST, namun tidak mampu untuk menghambat multiplikasi tunas, sehingga jumlah tunas yang dihasilkan sudah memenuhi botol kultur pada umur 16 MST

Pemberian perlakuan paclobutrazol dan ancymidol untuk peubah jumlah daun, jumlah tunas dan jumlah akar tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata untuk semua perlakuan sampai akhir pengamatan. Pada konservasi tanaman secara *in vitro* pembentukan akar, tanaman yang terlalu banyak akan mengurangi umur simpan biakan karena akar akan menyalurkan bahan makanan ke tanaman sehingga cadangan makanan habis dan biakan akan mati bila tidak segera dipindah ke media yang baru. Bahan makanan yang melimpah dengan adanya pembentukan akar akan memicu pertumbuhan tunas dan daun muda baru.

Penampakan tanaman secara visual menunjukkan bahwa tidak terjadi pemendekan ruas batang, tanaman lebih tegar dengan peningkatan konsentrasi paclobutrazol dan ancymidol, warna daun lebih gelap dibanding dengan tanpa kontrol serta ukuran daun pada perlakuan retardan paclobutrazol dan ancymidol menghasilkan ukuran daun yang lebih kecil seiring dengan peningkatan konsentrasi retardan. Penampakan arsitektur tanaman pada berbagai percobaan dapat dilihat pada Gambar 1-4.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Jeruk besar kultivar Nambangan dapat dikonservasi dengan pertumbuhan minimal yaitu dengan penggunaan manitol konsentrasi 20 g/l dan memperpanjang masa simpan tanaman sampai enam bulan. Namun penggunaan retardan paclobutrazol sampai dengan konsentrasi 5 mg/l tidak mampu untuk menghambat laju pertumbuhan tanaman. Pada percobaan tahap kedua penggunaan sorbitol 40 g/l pada varietas Srinonyo nyata mempengaruhi tinggi tanaman dan jumlah daun serta dapat memperpanjang masa simpan hingga 20 minggu, sedangkan penggunaan retardan ancymidol sampai dengan konsentrasi 5 mg/l tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap laju pertumbuhan tanaman dan tidak dapat digunakan sebagai media konservasi secara *in vitro*.

Saran

Perlunya penelitian lanjutan terhadap perlakuan paclobutrazol dan ancymidol pada konsentrasi yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ara, N., M. K. Bashar, M. D. K. Uddin dan K. H. Khalequzzaman. 2008. Evaluation of pummelo, *Citrus grandis* L. cultivars in northern area of Bangladesh. *J. Agric. Res.* 46(1): 65-75
- Buchanan. B. B., W. Gruisem and R. L. Jones. 2006. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists. Maryland, USA. 1367p.
- Dodds, J and W. Roberts. 1987. *Plant Tissue Culture*. Cambridge University Press. Sidney. 210 p.
- ICI. 1984. Paclobutrazol Plant Growth Regulator for Ornamentals Imperial Chemicals Industries. 21 p.
- Lestari, E. G., I. Mariska., S. Harran dan R. Megia. 2001. Penyimpanan *in vitro* tunas nilam dengan cara menghambat pertumbuhan. *Buletin Plasma Nutfah* 7 (2): 31-37.
- Leunufna, S. 2007. Kriopreservasi untuk konservasi plasma nutfah tanaman: peluang pemanfaatannya di Indonesia. *Jurnal Agrobiogen* 3 (2): 80-88.
- Montgomery, R., R. L. Dryer, T. W. Conway and A. A. Spector. 1993. *Biokimia* jilid I. UGM Press. Bandung. 686 hal.
- Muhammad, H., Armiati dan W. Dewa. 2003. Jeruk Keprok Selayar dan Upaya Pelestariannya. [www:http://64.233.179.104/scholar?hl=id&lr&q=cache:uT4YbtBHI4J](http://64.233.179.104/scholar?hl=id&lr&q=cache:uT4YbtBHI4J). 4 Desember 2007.
- Niyomdham, C. 1997. Buah-buahan yang dapat dimakan, hal 153-157. *Dalam* : E. W. M. Verheij dan R. E. Coronel (*Eds.*). *Sumber Daya Nabati Asia Tenggara II*. PT. Gramedia. Jakarta. 568 hal.
- Purwanto, E., E. Yuniastuti dan D. Waluyo. 1998. Keragaman Plasma Nutfah Jeruk Besar (*Citrus maxima* Merr.) Berdasarkan Karakter Morfologi. *Jurnal UNS*, Surabaya. 8 hal.
- Roostika, I., N. Sunarlim. dan V. N. Arief. 2005. Teknik penyimpanan kentang hitam secara *in vitro*. *Buletin Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 24 (1): 46-51.
- Setiawan, A. I. 1993. *Usaha Pembudidayaan Jeruk Besar*. Edisi I. PT. Penebar Swadaya. Jakarta. 102 hal.
- Sunarlim, N., A. V. Novianti dan I. Rostika. T. 2004. Penyimpanan *in vitro* gembili melalui pertumbuhan minimal. *Balai Pusat Penelitian Tanaman Pangan Bogor*. hal 267-275.
- Sunarlim, N., Minantyorini dan W. H. Adil. 1999. Penyimpanan ubi jalar secara *in vitro* dengan pertumbuhan minimal. *Buletin Plasma Nutfah* 5 (1): 1-5.
- Susilawati, N. 1998. *Konservasi Plasma Nutfah Ubi Jalar (Ipomaea batatas L.) dengan Osmotikum dan Retardan*. Sikripsi. Fakultas Pertanian, IPB. Bogor.
- Sutarto, I., Yuliasti dan Masrizal. 2003. *Konservasi Plasma Nutfah Galur Mutan Nilam Secara In Vitro pada Konsentrasi Media Dasar yang Berbeda*, hal 65-69. *Dalam*: *Risalah Pertemuan Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Aplikasi Isotop dan Radiasi*, Badan Tenaga Nuklir Nasional. Jakarta. 299 hal.
- Wahyuni, S., U. R. Sinniah., M. K. Yusop dan R. Amarthalingam. 2002. Effect of paclobutrazol and prohexadione-calcium on growth, lodging resistance and yield of wet seeded rice. *Buletin Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 21 (3): 24-29.
- 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. 455 hal.
- Wattimena, G. A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Pusat Antar Universitas IPB. Bogor. 145 hal.
- Withers, L. A and J. T. Williams. 1985. *In Vitro* Conesevation. *IBPGR Research Highlights*. Italy. 21 p.



Gambar 1. Arsitektur Tanaman Jeruk Besar Varietas Nambangan pada Berbagai Taraf Perlakuan Media Manitol (umur 20 MST).



Gambar 2. Arsitektur Tanaman Jeruk Besar Varietas Nambangan pada Berbagai Taraf Perlakuan Media Paclotrazol (umur 20 MST).



Gambar 3. Arsitektur Tanaman Jeruk Besar Varietas Srinonyia pada Berbagai Taraf Perlakuan Media Sorbitol (umur 16 MST).



Gambar 4. Arsitektur Tanaman Jeruk Besar Varietas Srinonyia pada Berbagai Taraf Perlakuan Media Ancymidol (umur 16 MST).