

**KONSERVASI *IN VITRO* TANAMAN JERUK BESAR (*Citrus maxima*(Burm.) Merr.)
CV. SRINYONYA MENGGUNAKAN OSMOTIKUM DAN RETARDAN**

***IN VITRO* CONSERVATION OF PUMMELO (*Citrus Maxima* (Burm.) Merr.) CV.
SRINYONYA USING OSMOTICUM AND RETARDANT.**

Iswari S. Dewi¹, Gani Jawak², Ika Roostika¹, M. Sabda¹, Bambang S. Purwoko², dan W. Adil¹

¹) Balai Besar Litbang Bioteknologi dan SDG Pertanian, Bogor

²) Departemen Agronomi dan Hortikultura, FAPERTA, IPB Bogor

ABSTRACT

Pummelo is an under-utilized citrus fruit with a potential for commercialization. Only several cultivars are conserved ex-situ, such as in homestead or botanical gardens. Such collections are vulnerable to biotic and abiotic hazards. The goal of the experiment was to study the effect of osmoticum (i.e. sorbitol) and retardant (i.e. ancymidol) on growth of pummelo in-vitro. The experiments were conducted using randomized complete design and replicated three times. In vitro shoot with four leaves from pummelo, namely cultivar Srinonyia, were used as the plant materials. The treatments consisting of MS + sorbitol (0 g/l, 20 g/l, 40 g/l and 60 g/l) and MS + ancymidol (0 mg/l, 1 mg/l, 3 mg/l and 5 mg/l). The results indicated that based on plant height, number of new leaves, and visual plant architecture, all sorbitol treatments were slowing the growth of pummelo significantly. On the other hand, although retardant (ancymidol) was not significantly inhibit the growth, but it was better than osmoticum in improving the vigor of in vitro plant, increasing leaf green color, and increasing root initiation. Senescence of the leaves occurred in sorbitol 40 and 60 g/l beginning at 20 WAC. The best media to conserve pummelo cv. Srinonyia was sorbitol 20 g/l.

Key words: pummelo, slow growth, sorbitol, ancymidol

ABSTRAK

Pamelo adalah salah satu tanaman buah yang berpotensi komersial. Hanya beberapa kultivar yang dikonservasi secara *ex-situ*, misalnya di kebun-kebun botani atau kebun petani. Koleksi di lapangan sangat rentan terhadap cekaman biotik dan abiotik. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh osmotikum (y.i. sorbitol) dan retardan (y.i. ancymidol) terhadap pertumbuhan pamelo secara *in-vitro*. Rancangan percobaan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 kali ulangan. Tunas-tunas *in vitro* berdaun 4 dari kultivar Srinonyia digunakan sebagai eksplan. Perlakuan terdiri atas media MS + sorbitol (0 g/l, 20 g/l, 40 g/l dan 60 g/l) serta media MS + ancymidol (0 mg/l, 1 mg/l, 3 mg/l dan 5 mg/l). Hasil percobaan menunjukkan bahwa berdasarkan tinggi tanaman, jumlah daun baru, dan penampilan tanaman, semua perlakuan sorbitol dapat melambatkan pertumbuhan pamelo secara nyata. Namun sebaliknya ancymidol tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan, walaupun jika dibandingkan dengan sorbitol tampak dapat lebih memperbaiki vigor tanaman, meningkatkan hijau daun dan inisiasi akar. Senesen pada daun pamelo dengan perlakuan sorbitol 40 dan 60 g/l mulai terjadi pada 20 minggu setelah tanam (MST). Media terbaik untuk mengkonservasi pamelo cv. Srinonyia *in vitro* adalah media MS yang diberi sorbitol 20 g/l.

Kata Kunci: *pamelo, pertumbuhan lambat, sorbitol, ancymidol*

PENDAHULUAN

Jeruk besar (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) atau pamelon mempunyai buah yang besar ukurannya serta bervariasi dari yang tidak berbiji sampai yang berbiji banyak, berair sampai kering dengan kulit buah yang lembut dan tebal. Menurut Niyomdham (2003), jeruk besar berasal dari Indonesia, dimana ia ditemukan tumbuh liar tersebar di hampir seluruh daerah di Indonesia. Jeruk besar merupakan tanaman buah yang berpotensi dikomersialkan.

Pada umumnya plasma nutfah tanaman buah seperti jeruk besar dikonservasi secara *ex-situ* di kebun-kebun botani. Genotipe yang berharga ditanam di rumah kaca atau rumah kawat, sehingga dapat lebih mudah dilindungi dari serangan hama dan penyakit atau kondisi iklim yang merusak. Namun, konservasi dengan cara tersebut tentu memerlukan biaya yang besar selain jumlah aksesori yang ditanam menjadi terbatas. Oleh karena itu, konservasi secara *in vitro* menjadi sangat menarik terutama untuk mengkonservasi tanaman yang berbiji non-ortodok atau tidak dapat disimpan dalam keadaan kadar air tertentu, namun dapat diperbanyak secara vegetatif seperti jeruk besar. Pada dasarnya konservasi *in vitro* dilakukan untuk memelihara diversitas genetik tanaman dalam kondisi steril di laboratorium (Pérez, 2000).

Konservasi *in vitro* memiliki keuntungan antara lain kemudahan dalam penyimpanan, menghemat pemakaian lahan, tenaga dan biaya, erosi genetik dapat dicegah, mempermudah pengiriman dan merupakan salah satu alternatif untuk melestarikan biji yang mudah rusak, bebas dari gangguan hama penyakit dan gangguan alam lainnya (Leunufna, 2007). Sampai saat ini konservasi *in vitro* belum diperhatikan untuk tanaman jeruk, sehingga untuk keperluan preservasi hanya dilakukan dengan cara pemeliharaan plantlet jeruk di media perbanyakan (*storage of actively growing cultures*) sampai plantlet tumbuh membesar dan perlu di subkultur kembali ke media baru (Ramkhrisna *et al.*, 2005). Hal ini tentu beresiko hilangnya material akibat kontaminasi atau penurunan vigor.

Metode pertumbuhan lambat (*slow growth methods*) merupakan salah satu metode yang dapat dipilih apabila diinginkan untuk memperoleh koleksi berupa tanaman hidup. Metode ini dapat dilakukan antara lain dengan pemberian osmotik regulator (osmotikum) yang berpengaruh terhadap tekanan osmotik media, seperti manitol atau sorbitol dan pemberian retardan yang menghambat pertumbuhan, seperti paclobutrazol, cycocel, ancymidol atau inhibitor asam absisat (Tyagi *et al.*, 2006; Keller *et al.*, 2006). Pemberian osmotikum dan retardan sudah banyak digunakan dalam konservasi *in vitro* tanaman umbi-umbian, seperti kentang (Roostika, *et al.*, 2005), ubi jalar (Purwoko *et al.*, 2000), dan temulawak (Syahid 2007).

Percobaan pendahuluan pada jeruk besar menunjukkan salah satu osmotikum, yaitu manitol, tidak dapat direkomendasikan untuk penyimpanan *in vitro* jeruk besar karena pada semua taraf perlakuan manitol (20, 40, dan 60 g/l) tampak daun mengalami perubahan warna dari hijau menjadi berwarna kuning sampai kecoklatan dan akhirnya berguguran (Jawak, 2008). Seperti manitol, sorbitol juga merupakan karbohidrat terhidrogenasi yang mempunyai peranan yang sama dalam translokasi karbohidrat (Deguchi *et al.*, 2004). Sementara itu retardan ancymidol sering digunakan sebagai pengganti manitol dalam konservasi tanaman *in vitro*, karena pada konsentrasi rendah dapat menghambat pertumbuhan dengan menghalangi tahap pembentukan ent-kaurene menjadi ent-kaurenol dan oksidasi ent-kaurenol pada lintasan biosintesis GA (Sarkar *et al.*, 2001).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh osmotikum sorbitol dan retardan ancymidol pada media konservasi terhadap pertumbuhan jeruk besar cv. Srinjanya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan mulai bulan Februari sampai Agustus 2008 di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor.

Bahan tanaman yang digunakan ialah jeruk besar cv. Srinjonya. Karena terbatasnya bahan tanaman, maka penelitian dilakukan dalam dua percobaan terpisah. Masing-masing percobaan disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan jenis zat pengatur tumbuh pada media konservasi sebagai faktor tunggal. Percobaan pertama terdiri atas perlakuan osmotikum sorbitol (S) dengan taraf 0, 20, 40, 60 g/l dan percobaan kedua terdiri atas perlakuan retardan ancymidol (A) dengan taraf 0, 1, 3, 5 mg/l. Masing-masing perlakuan pada setiap percobaan diulang sebanyak 3 kali, sehingga setiap percobaan terdiri atas 12 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri atas 3 eksplan. Eksplan yang digunakan ialah tunas pucuk (*shoot*) empat daun hasil perkecambahan biji *in vitro*. Eksplan berukuran seragam dengan tinggi awal ± 0.2 cm. Media MS digunakan sebagai media dasar pada setiap percobaan (Murashige dan Skoog, 1962) ditambah myo-inositol 100 mg/l, tiamin-HCl 10 mg/l, piridoksin 10 mg/l, asam nikotinat 1 mg/l dan sukrosa 30 g/l. Sorbitol atau ancymidol ditambahkan sesuai perlakuan. Keasaman (pH) medium ditetapkan 5.8 sebelum penambahan phytagelTM 3g/l, dan campuran tersebut kemudian diotoklaf pada 18-20 Psi dan suhu 120 °C selama 20 menit. Medium dimasukkan ke dalam botol kultur masing-masing sebanyak 40 ml. Semua kultur diinkubasi dalam keadaan terang (dari lampu neon) selama 16 jam pada suhu 26 ± 2 °C.

Kultur diamati mulai minggu ke dua setelah tanam (MST) dan selanjutnya setiap empat minggu selama lima bulan. Peubah yang diamati ialah: (a). Tinggi tanaman yang diukur dari permukaan media sampai ke titik tumbuh eksplan, (b). Jumlah daun baru, (c). Jumlah tunas dan akar yang tumbuh langsung dari eksplan yang dikulturkan, dan (d).. Penampilan tanaman dalam kultur secara kualitatif, yaitu ukuran dan bentuk tanaman, diamati pada akhir pengamatan (20 MST). Data dianalisis dengan uji F. Jika perlakuan menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap hasil pengamatan maka dilakukan analisis uji lanjut Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada taraf nyata 1% atau 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan sorbitol pada berbagai taraf menunjukkan pengaruh yang nyata sampai sangat nyata terhadap semua peubah, kecuali pada jumlah tunas. Namun perlakuan ancymidol tidak berpengaruh terhadap peubah tinggi, pertambahan daun maupun pertumbuhan akar (Tabel 1).

Secara umum dengan perlakuan sorbitol pertumbuhan tinggi tanaman lebih rendah dibandingkan kontrol (tanpa sorbitol). Sebaliknya, tinggi tanaman pada perlakuan ancymidol tampak sedikit lebih tinggi dibandingkan kontrol yang tanpa ancymidol (Gambar 1). Walaupun terjadi penurunan sejak 16 MST pada perlakuan ancymidol 5 mg/l, tetapi hal ini disebabkan banyaknya tanaman yang mati dan kemudian terkontaminasi jamur.

Hal serupa terjadi pada pertambahan jumlah daun, dimana perlakuan sorbitol memberikan pengaruh yang nyata pada 4 MST dan 20 MST sedangkan pada 8 MST sampai 16 MST memberikan pengaruh yang sangat nyata (Tabel 1). Tampak perlakuan sorbitol 40 g/l dan 60 g/l sangat menekan pertambahan jumlah daun dibandingkan perlakuan sorbitol 20 g/l (Gambar 2). Sebaliknya pada perlakuan ancymidol tampak jumlah daun terus bertambah pada semua taraf perlakuan (Gambar 2). Pada perlakuan tanpa ancymidol maupun dengan ancymidol 1 mg/l dan 3 mg/l daun terus bertambah sampai pengamatan terakhir (20 MST), sedangkan pada perlakuan ancymidol 5 mg/l hanya sampai minggu ke 16. Hal ini disebabkan daun mulai ada yang gugur pada 20 MST. Pertambahan jumlah daun perlakuan ancymidol 5 mg/l juga lebih sedikit dibandingkan dengan konsentrasi lainnya.

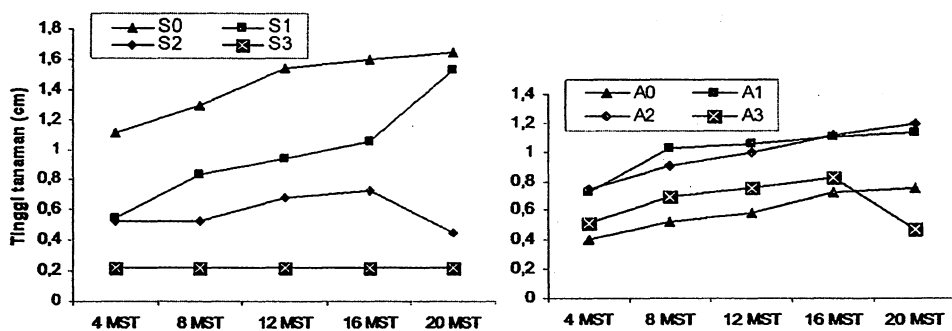
Tunas sudah muncul saat 4 MST pada percobaan perlakuan tanpa dan dengan sorbitol 20 g/l, sedangkan untuk perlakuan sorbitol 40 g/l tunas baru muncul saat 12 MST. Perlakuan sorbitol 60 g/l tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan tunas sampai akhir pengamatan 20 MST. Pertambahan jumlah tunas yang tertinggi dihasilkan pada perlakuan sorbitol 20 g/l (Tabel 2). Hal serupa terjadi pada perlakuan ancymidol, yaitu tidak semua taraf konsentrasi dapat menginduksi pertumbuhan

tunas. Tunas hanya muncul pada perlakuan ancymidol 3 mg/l dan 5 mg/l, yaitu berturut-turut pada saat 12 MST dan 16 MST (Tabel 2).

Tabel 1. Hasil sidik ragam pengaruh perlakuan terhadap pertumbuhan kultur *in vitro* jeruk besar cv. Srinjanya

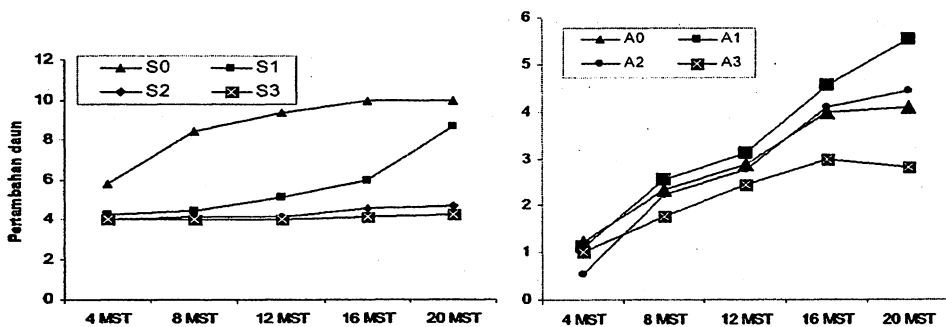
Waktu Pengamatan (MST)	Tinggi (cm)		Pertambahan Daun		Jumlah Tunas		Jumlah Akar	
	Sorbito	Ancymido	Sorbito	Ancymido	Sorbito	Ancymido	Sorbito	Ancymido
4	*	tn	*	tn	tn	tn	**	tn
8	**	tn	**	tn	tn	tn	**	tn
12	**	tn	**	tn	tn	tn	**	tn
16	**	tn	**	tn	tn	tn	**	tn
20	*	tn	*	tn	tn	tn	**	tn

** = berbeda nyata pada uji DMRT dengan taraf nyata 1%, * = berbeda nyata pada uji DMRT dengan taraf nyata 5%
tn = tidak berbeda nyata pada uji DMRT dengan taraf nyata 5%



Ket.: sorbitol 0 g/l (S0), 20 g/l (S1), 40 g/l (S2), 60 g/l (S3);
ancymidol 0 mg/l (A0), 1 mg/l (A1), 3 mg/l (A2), 5 mg/l (A3)

Gambar 1. Pengaruh osmotikum dan retardan terhadap pertumbuhan tinggi kultur jeruk besar cv. Srinjanya *in vitro*



Ket.: sorbitol 0 g/l (S0), 20 g/l (S1), 40 g/l (S2), 60 g/l (S3);
ancymidol 0 mg/l (A0), 1 mg/l (A1), 3 mg/l (A2), 5 mg/l (A3)

Gambar 2. Pengaruh sorbitol atau ancymidol terhadap pertambahan daun kultur jeruk besar cv. Srinjanya *in vitro*

Tabel 2. Nilai rata-rata pertambahan tunas jeruk besar cv. Srinjonya

Perlakuan	Pertambahan tunas				
	4 MST	8 MST	12 MST	16 MST	20 MST
A. Sorbitol					
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	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a
Tanpa Sorbitol	0.3 ^a	0.3 ^a	0.5 ^a	0.5 ^a	0.5 ^a
B. Ancymidol					
Ancymidol 1 mg/l	0.0 ^a	0.0 ^a	0.6 ^a	0.6 ^a	0.6 ^a
Ancymidol 3 mg/l	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a
Ancymidol 5 mg/l	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a
Tanpa Ancymidol	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a

angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada minggu yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%. Semua data ditransformasi dengan $(x + 0.5)^{1/2}$, nilai 0.0 = tidak ada pertambahan jumlah tunas.

Perlakuan sorbitol pada berbagai taraf menunjukkan adanya pengaruh yang sangat nyata terhadap kemampuan berakar. Semua eksplan pada perlakuan sorbitol (20, 40 dan 60 g/l) tidak berakar, sedangkan eksplan di dalam media tanpa sorbitol mengeluarkan akar secara normal. Sebaliknya pada percobaan perlakuan ancymidol pengaruhnya terhadap kemampuan berakar tidak nyata, sehingga pada semua taraf konsentrasi (1, 3, dan 5 mg/l) eksplan jeruk besar dapat berakar (Tabel 3). Akar pada perlakuan ancymidol mulai muncul pada 8 MST.

Tabel 3. Nilai rata-rata jumlah akar jeruk besar cv. Srinjonya pada berbagai media

Perlakuan	Jumlah akar				
	4 MST	8MST	12 MST	16 MST	20 MST
A. Sorbitol					
Sorbitol 20 g/l	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b
Sorbitol 40 g/l	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b
Sorbitol 60 g/l	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b
Tanpa Sorbitol	0.6 ^a	0.7 ^a	0.9 ^a	0.9 ^a	0.9 ^a
B. Ancymidol					
Ancymidol 1 mg/l	0.0 ^b	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a
Ancymidol 3 mg/l	0.0 ^b	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a
Ancymidol 5 mg/l	0.0 ^b	0.5 ^a	0.5 ^a	0.5 ^a	0.5 ^a
Tanpa Ancymidol	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a	0.3 ^a

angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada minggu yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%. Semua data ditransformasi dengan $(x + 0.5)^{1/2}$, nilai 0.0 = tidak berakar

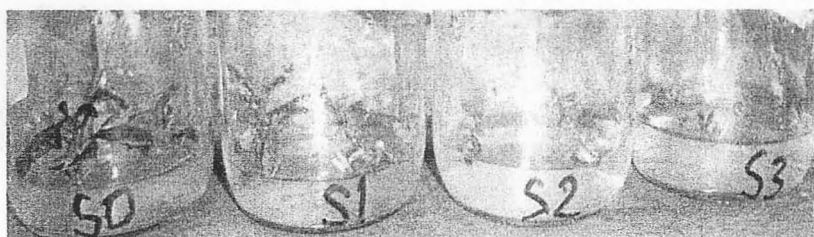
Sorbitol merupakan gula alkohol berkarbon enam ($C_6H_{14}O_6$) yang berfungsi seperti sukrosa sebagai agen osmotik yang mengatur potensial air dalam sel. Pada umumnya osmoregulator memiliki fungsi yang sama pada media kultur *in vitro* yaitu meningkatkan osmolaritas media (Shibli *et al.*, 2006; Buchanan *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. Dengan demikian melalui pengaturan tekanan osmotik media maka pertumbuhan tanaman jeruk besar cv. Srinjonya menjadi terhambat yang ditunjukkan oleh rendahnya tanaman dan sedikitnya pertambahan daun serta tidak munculnya akar (Gambar 1 dan 2).

Ancymidol ($C_{15}H_{16}N_2O_2$) mempengaruhi sintesis giberelin dengan menghambat tahap oksidatif dalam biosintesis ent-kaurene, prekursor giberelin (Sarkar *et al.*, 2001). Terhambatnya produksi giberelin menyebabkan pengurangan kecepatan dalam pembelahan sel yang mempengaruhi pemanjangan ruas batang dan perbesaran diameter batang (Sarkar *et al.*, 2001; Saos *et al.*, 2002).

Namun, percobaan perlakuan ancymidol pada kultivar Srinjanya pada berbagai taraf ternyata tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata terhadap tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah tunas dan jumlah akar (Tabel 1). Hal ini kemungkinan disebabkan kandungan sitokinin endogen dalam jaringan tanaman sudah cukup tinggi sehingga taraf konsentrasi ancymidol yang diberikan (1, 3, dan 5 mg/l) belum cukup untuk menghambat aktivitas pembelahan sel (Tabel 2, dan Tabel 3). Sitokinin endogen berfungsi dalam morfogenesis sel atau jaringan dan pembelahan sel (Davies, 1995). Perlakuan ancymidol ini menghasilkan kesimpulan yang serupa dengan penelitian Lestari *et al.* (2001) yang menyatakan konsentrasi ancymidol 5 mg/l pada tanaman nilam pada mulanya mampu untuk menghambat pertumbuhan tunas hingga umur 12 MST, namun selanjutnya tidak mampu untuk menghambat multiplikasi tunas, sehingga pada 16 MST sudah harus dilakukan subkultur.

Penampilan tanaman dalam kultur

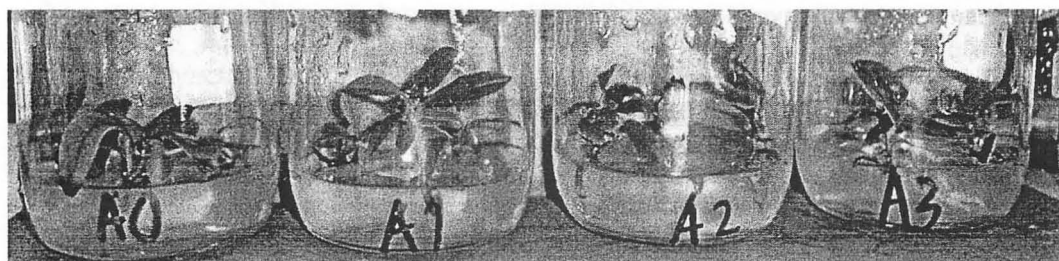
Penampilan tanaman dalam kultur diamati secara kualitatif pada 20 MST. Pengamatan terhadap penampilan tanaman untuk perlakuan sorbitol 20 g/l, 40 g/l dan 60 g/l menunjukkan tanaman dengan tinggi tanaman dan daun yang lebih kecil dibanding dengan perlakuan tanpa sorbitol (Gambar 3). Warna daun semakin menguning dan tingkat gugur daun semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi sorbitol. Pada perlakuan sorbitol 40 g/l dan 60 mg/l sebagian eksplan banyak yang mati dengan ujung pucuk mengering. Hal serupa terjadi pada tanaman tembakau transgenik, dimana pada konsentrasi sorbitol yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan tinggi tanaman sampai menyebabkan nekrosis (Deguchi *et al.*, 2004). Oleh karena itu berdasarkan pertambahan daun dan tunas, serta rendahnya tingkat kematian tanaman tampak pengaruh perlakuan sorbitol 20 g/l cenderung lebih baik dibandingkan sorbitol 40 g/l dan 60 g/l (Tabel 2 dan Gambar 2).



S0: sorbitol 0 mg/l ; S1: sorbitol 20 g/l , S2: sorbitol 40 g/l , S3: sorbitol 60 g/l

Gambar 4. Penampilan biakan tanaman jeruk besar kultivar Srinjanya pada berbagai taraf perlakuan sorbitol pada 20 MST

Penampilan tanaman pada semua taraf perlakuan ancymidol tidak memperlihatkan adanya perbedaan ukuran tinggi dan ukuran daun dibanding dengan kontrol (Gambar 4). Warna daun pada perlakuan ancymidol juga lebih hijau dibandingkan dengan perlakuan tanpa ancymidol dan semakin hijau dengan peningkatan konsentrasi yang diberikan. Dibandingkan dengan perlakuan retardan ancymidol, pada perlakuan osmoregulator sorbitol tampak tanaman lebih tegar (*vigorous*) dengan warna daun lebih hijau. Retardan memang merupakan senyawa organik sintetik yang bila diberikan pada media akan meningkatkan warna hijau daun, meningkatkan jumlah akar tanpa menyebabkan pertumbuhan yang abnormal (Cathey, 1975). Hal serupa terjadi pada kentang yang dikonservasi di media dengan ancymidol dimana vitrifikasi dan lemahnya tanaman, yang menjadi ciri pada konservasi kentang dalam media osmotikum, tidak terjadi walaupun tanaman dikonservasi untuk jangka waktu lebih dari 6 bulan (Sarkar *et al.*, 2001).



A0: tanpa ancymidol; A1: ancymidol 1 mg/l; A2 : ancymidol 3 mg/l; A3 : ancymidol 5 mg/l.

Gambar 4. Biakan tanaman jeruk besar kultivar Srinonyia pada berbagai taraf perlakuan ancymidol pada 20 MST.

Laju pertumbuhan yang lambat seperti yang ditunjukkan oleh pengaruh sorbitol pada penelitian ini menguntungkan karena akan memperlama siklus subkultur. Siklus subkultur akan berpengaruh terhadap lama penyimpanan plasma nutfah *in vitro*. Selain itu semakin jarang suatu tanaman di subkultur maka biaya pemeliharaan yang dibutuhkan juga akan semakin kecil. Peningkatan periode subkultur antara 6 atau 12 bulan akan menghemat biaya dan mengurangi laju kontaminasi dan menghindarkan terjadinya mutasi pada plasmanutfah yang disimpan (Maurie *et al.*, 1998).

KESIMPULAN

Berdasarkan tinggi tanaman, penambahan daun, berkurangnya ukuran daun dan pertumbuhan tunas, jeruk besar kultivar Srinonyia dapat dikonservasi secara *in vitro* dengan menginduksi pertumbuhan minimal melalui pemberian sorbitol 20 g/l, sehingga dapat disimpan lebih dari lima bulan. Retardan ancymidol walaupun secara statistik belum dapat menghambat pertumbuhan jeruk besar dalam kultur, namun dapat memperbaiki ketegaran tanaman, meningkatkan warna hijau daun dan mempercepat munculnya akar. Untuk penelitian selanjutnya perlu dicoba menggunakan kombinasi osmotikum dan retardan untuk penyimpanan jeruk besar sehingga dapat diperoleh kultur yang pertumbuhannya minimal, namun tetap vigor, berakar, dan bertunas banyak dengan daun yang tetap hijau.

DAFTAR PUSTAKA

- Buchanan. B. B., W. Gruisem and R. L. Jones. 2006. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists. Maryland, USA. 1367p.
- Cathey, H. M. 1975. Physiology of growth retarding chemical, Annual Review Plant Physiology (15): 272-299. *In*: M. Leonard and W. R. Brigg (Eds.). Annual Review Inc. California.
- Davies, P.J. 1995. The plant hormones: Their nature, occurrence, and functions. *In* P.J Davies (ed.). Plant Hormones. Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology. 2nd Edition. Kluwer Acad. Publ. Netherlands. pp. 1-12.
- Deguchi, M., Y. Koshita, M. Gao, R. Tao, T. Tetsumura, S. Yamaki, and Y. Kanayama. 2004. Engineered sorbitol accumulation induces dwarfism in Japanese persimmon. J. Plant Physiol. 161: 1177-1184.
- Jawak, G., B.S. Purwoko, dan I.S. Dewi. 2008. Konservasi plasma nutfah jeruk besar (*Citrus grandis* L. Osbeck) secara *in vitro*. Makalah Seminar Dep. Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB. 6 hal.

- Keller, E.R.J., A. Senula, S. Leunufna, and M. Grübe. 2006. Slow growth storage and cryopreservation—tools to facilitate germplasm maintenance of vegetatively propagated crops in living plant collections. *Internat. J. Refrig.* 29: 411–417.
- 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 Agro Biogen* 3(2): 80-88.
- Malaurie B., M-F. Trouslot, J. Berthaud, M. Bousalem, A. Pinel and J. Dubern. 1998. Medium-term and long-term *in vitro* conservation and safe international exchange of yam (*Dioscorea spp.*) germplasm. *Electronic Journal of Biotechnology (EJB)* Vol.1 No.3, Issue of December 15, 1998. Accessed: February 04, 2009.
- Min, Y.Y. 1997. Study on diverse centre of origin of pummelo germplasm. *China Citrus* 26(1): 3-5.
- Murashige T and Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497.
- Niyomdham, C., 2003. *Citrus maxima* (Burm.) Merr.. [Internet] Record number 1491 from TEXTFILE On-line. In *Edible Fruits and Nuts*, p.128-131. E.W.M. Verheij and R.E. Coronel (Eds.). PROSEA (Plant Resources of South-East Asia) Foundation, Bogor, Indonesia. <http://www.proseanet.org>. Accessed: May 19, 2004.
- Pérez, R.M. 2000. Cryostorage of citrus embryogenic cultures. p. 687-705. *In: Somatic Embryogenesis in Woody Plants*. Vol. 6. S.M. Jain, P.K. Gupta, and R.J. Newton (eds), Kluwer Acad. Publ., The Netherlands.
- Purwoko, B.S, I.S. Dewi, N. Susilawati. 2000. Konservasi *in-vitro* plasmanutfah ubijalar (*Ipomoea batatas* L.) dengan osmotikum dan retardan. *J. Tan. Tropika* 3(2):
- Ramkrishna, N. Khawale and S.K. Singh. 2005. *In vitro* adventitive embryony in citrus: A technique for citrus germplasm exchange. *Curr. Sci.*, 88(8):1309-1311.
- Roostika, I., N. Sunarlim., V. N. Arief. 2005. Teknik penyimpanan kentang hitam secara *in vitro*. *Buletin Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 24 (1): 46-51.
- Saos, F.L.G., A. Hourmant, F. Esnault, and J.E. Chauvin. 2002. *In vitro* bulb development in shallot (*Allium cepa* L. *Agregatum* Group): Effects of anti-gibberellins, sucrose, and light. *Ann. Bot.* 89:419-425.
- Sarkar D., S.K. Chakrabarti, dan P.S. Naik. 2001. Slow-growth conservation of potato microplants: Efficacy of ancymidol for long-term storage *in vitro*. *Euphytica* 117:133-142.
- Shibli, R.A. M.A. Shatnawi, W.S. Subaih, and M.M. Ajlouni. 2006. *In vitro* conservation and cryopreservation of plant genetic resources: Review. *World J. Agric. Sci.* 2(4): 372-282.
- Syahid, S.F. 2007. Pengaruh retardan paclobutrazol terhadap pertumbuhan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) selama konservasi *in vitro*. *Jurnal Liri* 13 (3): 93-97.
- Tyagi, R.K., A. Agrawal, A.Yusuf. 2006. Conservation of Zingiber germplasm through *in vitro* rhizome formation. *Scientia Horticulturae* 108: 210–219