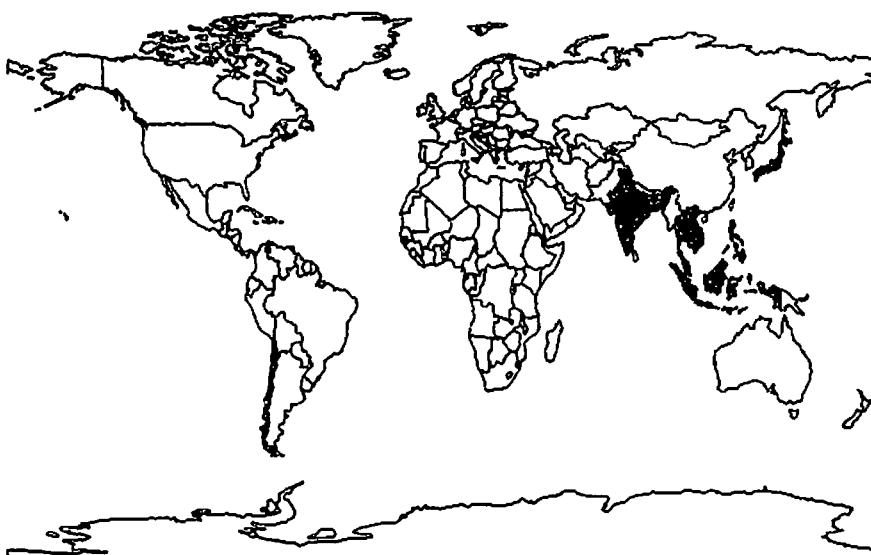


### **3. BOTANI DAN KAJIAN KEKERABATAN KULTIVAR PAMELO**

#### **3.1. Botani**

Pamelo berasal dari Malesia yang meliputi Indonesia, Semenanjung Malaysia, Filipina, Thailand bagian selatan, Serawak, Brunei, Papua Nugini dan pulau-pulau kecil di sekitar Papua Nugini. Pamelo kemudian tersebar sampai ke Indochina; Cina bagian selatan dan bagian selatan Jepang dan menyebar ke arah barat ke India, wilayah Mediteran dan Amerika Tropik (Gambar 3.1). Pamelo telah dibudidayakan dengan baik di China, Jepang, Vietnam, Malaysia, Indonesia dan Thailand (Niyomdham 1997).



**Gambar 3.1. Peta penyebaran pamelo**

Pamelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) memiliki sinonim *C. grandis* (L.) Osbeck, *C. decumana* L., *C. aurantium* var. *grandis* L. dan *C. aurantium* var. *decumana* L. (Manner et al. 2006). Jumlah kromosom pamelo  $2n = 18$

(Niyomdham 1997). Pamelo termasuk ke dalam famili Rutaceae. Di Indonesia, pamelo sering disebut sebagai jeruk besar, jeruk bali dan pamelo. Klasifikasi tanaman jeruk pamelo adalah sebagai berikut:

Kingdom	:	Plantae
Divisi	:	Spermatophyta
Sub-divisi	:	Angiospermae
Kelas	:	Dicotyledonae
Ordo	:	Rutales
Famili	:	Rutaceae
Genus	:	Citrus
Spesies	:	<i>Citrus maxima</i> (Burm.) Merr.

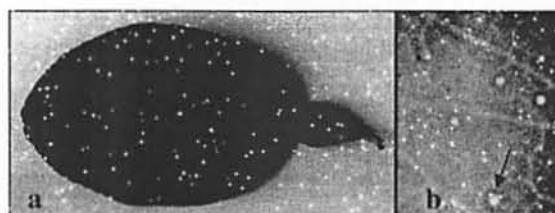
Menurut Mabberley (1997), pamelo merupakan salah satu dari tiga spesies asal jeruk, disamping dua spesies asal jeruk lainnya yaitu *C. medica* L. (citron) dan *C. reticulata* Blanco (mandarin).

Tanaman pamelo berbentuk pohon dengan tinggi dapat mencapai 15 meter. Batang pamelo kuat, dengan diameter 10-30 cm. Kulit batang agak tebal, bagian luar berwarna coklat kekuningan dan bagian dalam kuning. Dahan muda bersudut, setelah tua membulat dan berwarna hijau tua. Tajuk pohon agak rendah, tidak beraturan. Cabang pamelo bersilangan satu sama lain, dan ujungnya merunduk. Dahan dan cabang ada yang berduri banyak, ada yang tidak (Niyomdham 1997).



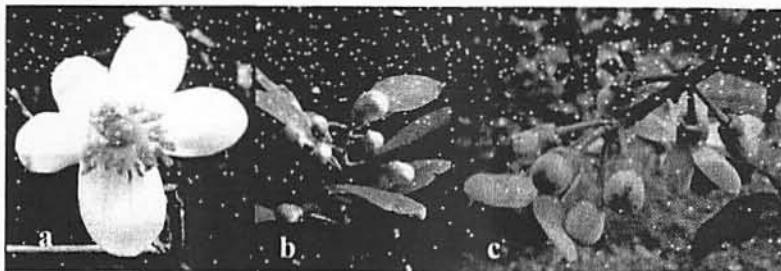
Gambar 3.2. Keragaan batang dan dahan pamelo. a. 'Giri Matang', b. 'Cikoneng'.

Daun pamelo (Gambar 3.3) berbentuk bulat telur sampai jorong; dengan ukuran 5-20 cm x 2-12 cm; pangkal membundar sampai menjantung; tepi daun rata sampai beringgit dangkal; ujung daun lancip sampai tumpul. Pada helai daun terdapat bintik-bintik kelenjar minyak. Helai daun ada yang berbulu ada yang tidak. Panjang tangkai daun pamelo dapat mencapai 5 cm, bersayap yang lebarnya dapat mencapai 2 cm. Daun muda berwarna hijau muda, setelah tua berwarna hijau agak suram (Niyomdhham 1997).



Gambar 3.3 Daun pamelo a. helai daun dengan tangkai daun yang bersayap dan b. kelenjar minyak yang ditunjukkan tanda panah pada daun.

Bunga pamelo merupakan bunga majemuk, tersusun dari 1-15 bunga. Rangkaian bunga tumbuh dari mata tunas pada dahan dan ranting yang dapat dibedakan menjadi rangkaian bunga yang berdaun dan tidak berdaun (Gambar 3.4). Kedua macam rangkaian bunga tersebut terdapat dalam satu pohon.



Gambar 3.4. Bunga pamelo a. bunga mekar. b. Rangkaian bunga berdaun, c. Rangkaian bunga tidak berdaun.

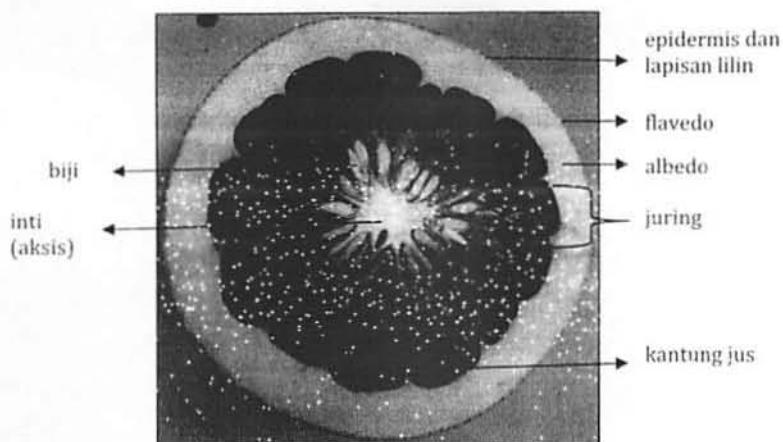
Bunga pamelo tergolong sempurna, karena memiliki putik dan benang sari dalam satu bunga. Panjang kuncup dapat mencapai 3 cm, setelah mekar menjadi 5 cm. Panjang tangkai bunga dapat mencapai 2 cm. Kelopak bunga berwarna hijau; berbulu halus; mahkota bunga berwarna putih susu berjumlah 3-8, variasi jumlah mahkota bisa ditemui dalam satu rangkaian bunga. Mahkota tersusun seperti genting. Benangsari 20-35, tegak, kepala sari menghadap putik, berwarna kuning. Tangkai putik berwarna putih dan kepala putik berwarna hijau. Umumnya kepala putik sudah masak sebelum bunga mekar, sedang waktu masaknya kepala sari bergantung pada suhu dan kelembaban lingkungan. Bila suhu tinggi dan kelembaban rendah, kepala sari masak sebelum bunga mekar, seperti yang terjadi di Magetan dan di kebun koleksi pamelo IPB. Bunga pamelo berbau harum.

Buah pamelo dapat berbentuk *spheroid* (seperti bola), *ellipsoid* (lonjong) dan *pyriform* (*bagian ujung lebih lebar dibandingkan pangkal buah*) (Gambar 3.5 a dan b). Diameter buah 10-30 cm. Bintik-bintik kelenjar

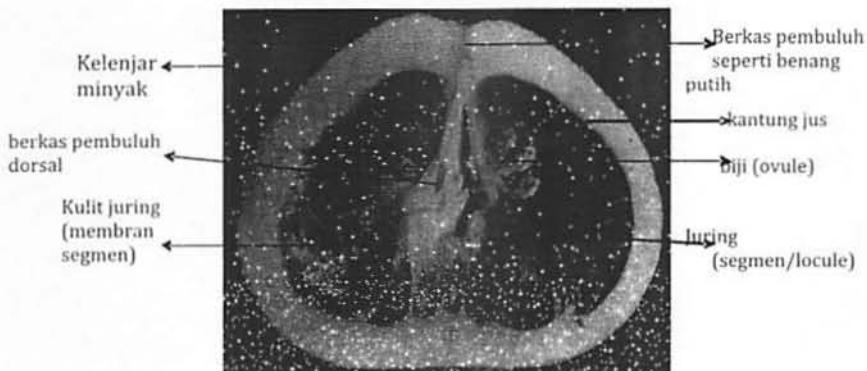
minyak banyak terdapat pada permukaan kulit (Gambar 3.5 c), ada yang bentuknya menonjol, ada yang tidak. Tebal kulit buah 1-4 cm. Warna kulit buah pamelo yang masak berkisar dari hijau hingga kuning tua (Susanto, 2010). Buah berasal dari pertumbuhan dan perkembangan ovarii dan terdiri atas 8-16 karpel yang mengelilingi dan disatukan oleh axis bunga, yang membentuk inti pada buah. Karpel membentuk lokul atau segmen atau juring, tempat biji dan kantung jus (vesikel) terbentuk. Kulit buah (perikarp) terbagi menjadi kulit bagian luar (exokarp/flavedo) dan kulit bagian dalam (mesokarp/albedo). Flavedo merupakan lapisan paling luar, dan bagian yang berwarna, sedangkan albedo merupakan lapisan bagian dalam, tidak berwarna (putih) atau kadang berwarna agak merah. Irisan melintang dan membujur pamelo disajikan masing-masing pada Gambar 3.6 dan 3.7.



Gambar 3.5 Buah pamelo a. berbentuk sferoid, b. berbentuk pyriform, c. kelenjar minyak pada kulit.



Gambar 3.6 Irisan melintang buah pamelo dan bagian-bagian buah.

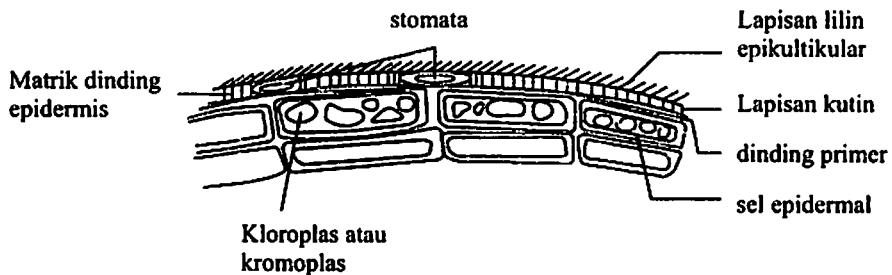


Gambar 3.7. Irisan membujur pamelo dan bagian-bagiannya

Menurut Ladania (2008) flavedo terdiri dari kulit bagian luar (epicarp), hipodermis, bagian luar mesokarp, dan kelenjar minyak. Di atas epicarp terdapat beberapa lapisan kutikula. Kutikula terdiri dari satu lapisan bagian dalam tersusun oleh kutin, yang merupakan polimer heterogen atau asam lemak dan selulosa, dan lapisan bagian luar yang terdiri dari kutin

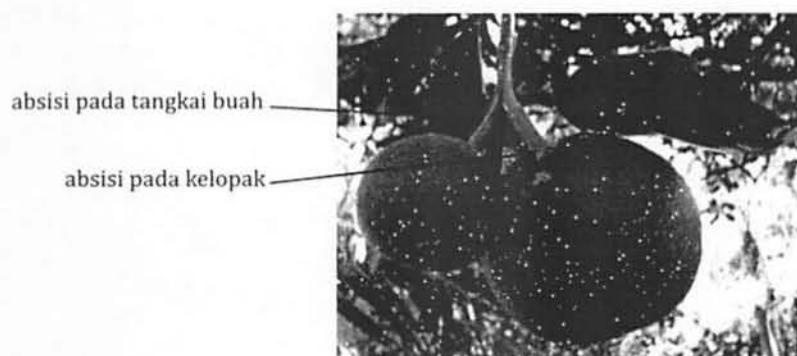
(Baker *et al.*, 1975). Matrik kutin dibentuk dari kutin, lilin dan suatu bahan pembentuk dinding sel. Deposisi lilin berlangsung terus sepanjang pertumbuhan buah, lilin mengeras dan membentuk pecahan-pecahan secara alami. Sel-sel epidermis mensintesis lemak dan lilin untuk disimpan pada lapisan kutin (Gambar 3.8). Lemak dalam bentuk platelet atau balok atau bentuk lainnya disimpan di dalam atau di atas lapisan kutikula. Lilin pada epikutikula dibentuk dari alkohol, parafin, aldehid, keton dan lain-lain, berfungsi untuk mencegah kulit buah kehilangan air melalui transpirasi (Freeman, 1978), sehingga kandungan air tetap tinggi untuk berlangsungnya metabolisme secara normal.

Beberapa stomata tersebar di seluruh permukaan lapisan sel epidermis di atas jaringan parenkim di antara kelenjar. Stomata akan tersumbat dengan lapisan lilin ketika buah masak. Stomata tetap berfungi walaupun buah diberi perlakuan dengan lapisan lilin setelah dipanen. Zat pengatur tumbuh yang diberikan secara eksogen melalui stomata sedikit diserap melalui lapisan lilin yang retak-retak (Ladania 2008).



Gambar 3.8. Anatomi albedo pada kulit painelo  
(Ladaniya, 2008).

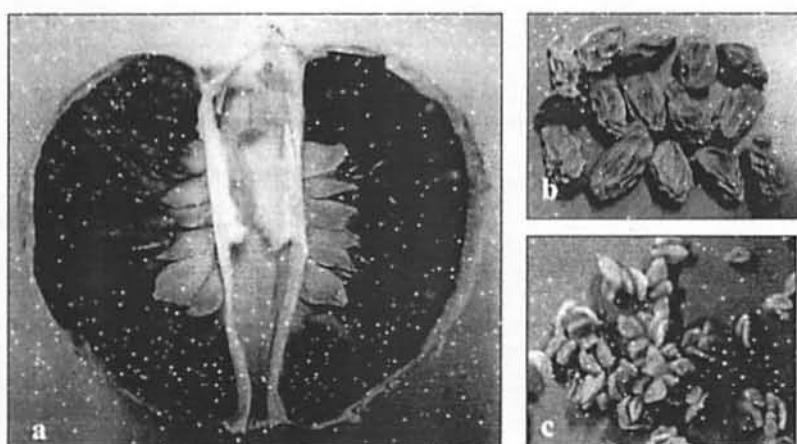
Buah pamelo merupakan buah non-klimakterik dan matang di pohon. Buah yang lewat matang akan jatuh dan kadang kandungan air buah berkurang. Sebaiknya buah di panen sebelum jatuh. Buah yang matang mudah jatuh akibat melunaknya jaringan pada zona absisi. Zona absesi pada jeruk berada pada dua tempat, yaitu di antara tangkai buah dan batang dan di antara tangkai buah dan buah (Gambar 3.9). Buah makin mudah dipetik seiring makin masaknya buah. Buah matang berumur 7-10 bulan setelah muncul bunga. Setiap pohon dapat menghasilkan sampai 200 buah.



Gambar 3.9. Zona absesi pada pamelo

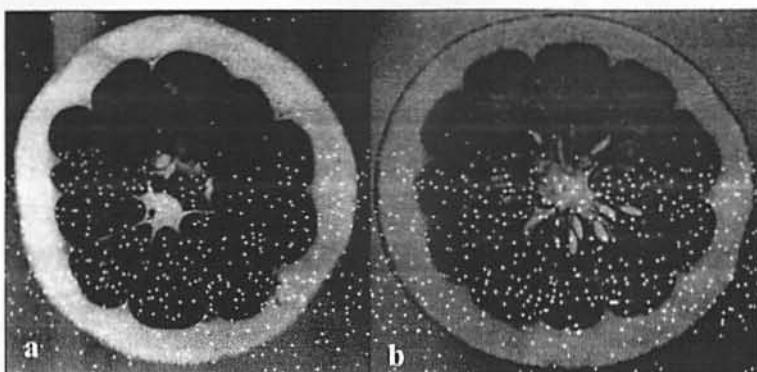
Biji pamelo biasanya terletak di bagian atas juring; berkelompok atau tersebar. Biji ada yang berkembang penuh ada yang tidak (Gambar 3.10). Biji yang berkembang penuh ukurannya relatif besar; keras; padat karena kotiledon dan embrio berkembang. Biji yang tidak berkembang penuh dapat memiliki bentuk seperti biji yang berkembang penuh tetapi ukuran biji lebih kecil dan kempes karena kotiledon dan embrio tidak berkembang; atau berbentuk seperti biji cabai atau berupa titik-titik berwarna coklat muda. Kulit biji terdiri atas dua lapisan, kulit bagian luar (testa) yang tebal, berwarna coklat kekuningan, keriput di salah satu atau kedua sisinya

tergantung letak biji di dalam septa, sisi yang berhadapan dengan daging buah berkerut mengikuti bentuk daging buah yang menempel pada biji. Kulit bagian dalam (tegmen) seperti lapisan plastik tipis, liat, berwarna coklat susu. Jumlah biji yang berkembang penuh antara 0-198 biji per buah. Kotiledon berwarna putih, embrio tunggal. Biji tidak dapat disimpan lama (rekalsitran).



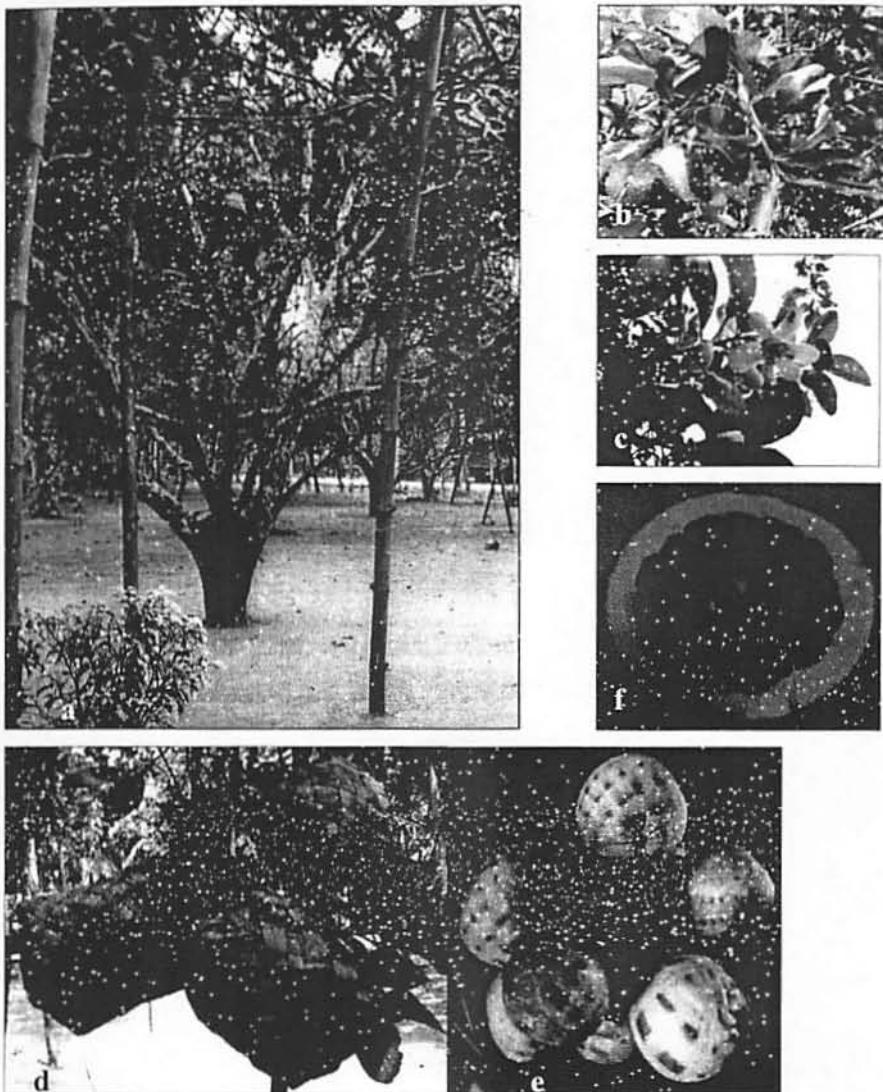
Gambar 3.10. Biji pamelo. a. irisan membujur buah menunjukkan letak biji dalam juring, b. biji berkembang penuh, c. biji tidak berkembang.

Dari sisi keberadaan biji, buah pamelo dapat dikelompokkan menjadi pamelo berbiji dan pamelo tidak berbiji (Gambar 3.11). Pamelo dianggap tidak berbiji jika memiliki jumlah biji kurang dari 10 biji per buah. Sebagian besar buah pamelo Indonesia termasuk pamelo berbiji. Beberapa kultivar pamelo Indonesia yang termasuk kelompok tidak berbiji antara lain Bageng Taji, Bali Merah 2 dan Jawa 1.

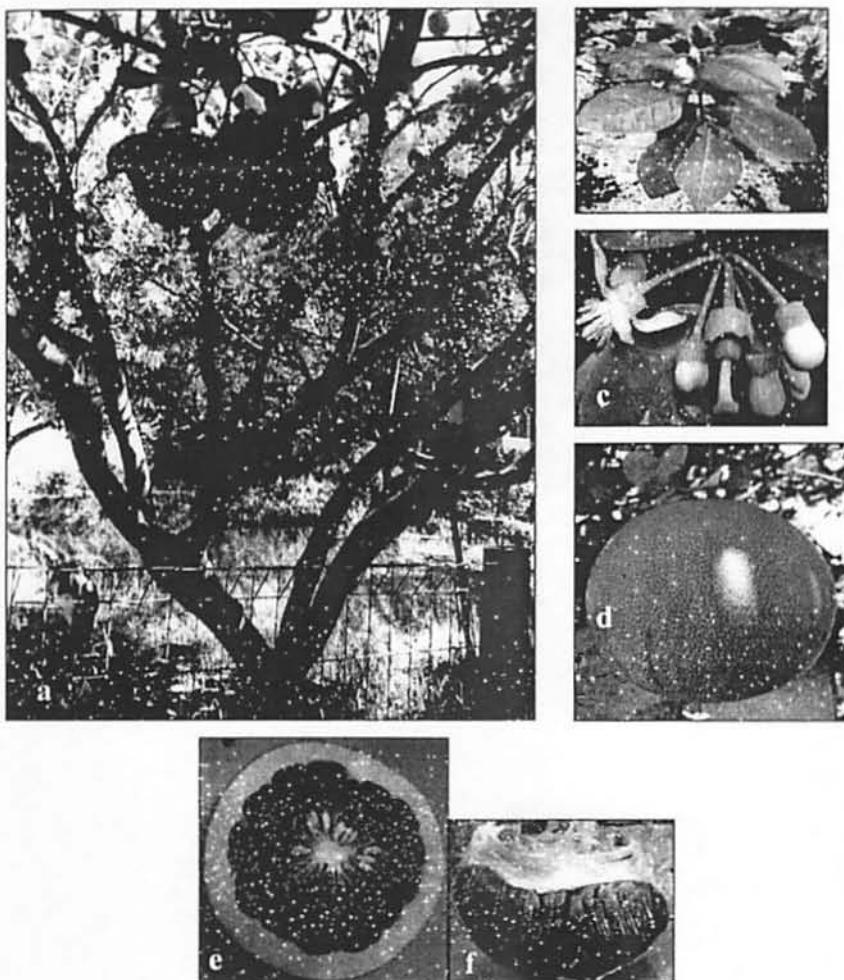


Gambar 3.11. Irisan melintang buah pamelo a. pamelo tidak berbiji dengan 10 juring, b. pamelo berbiji dengan 11 juring.

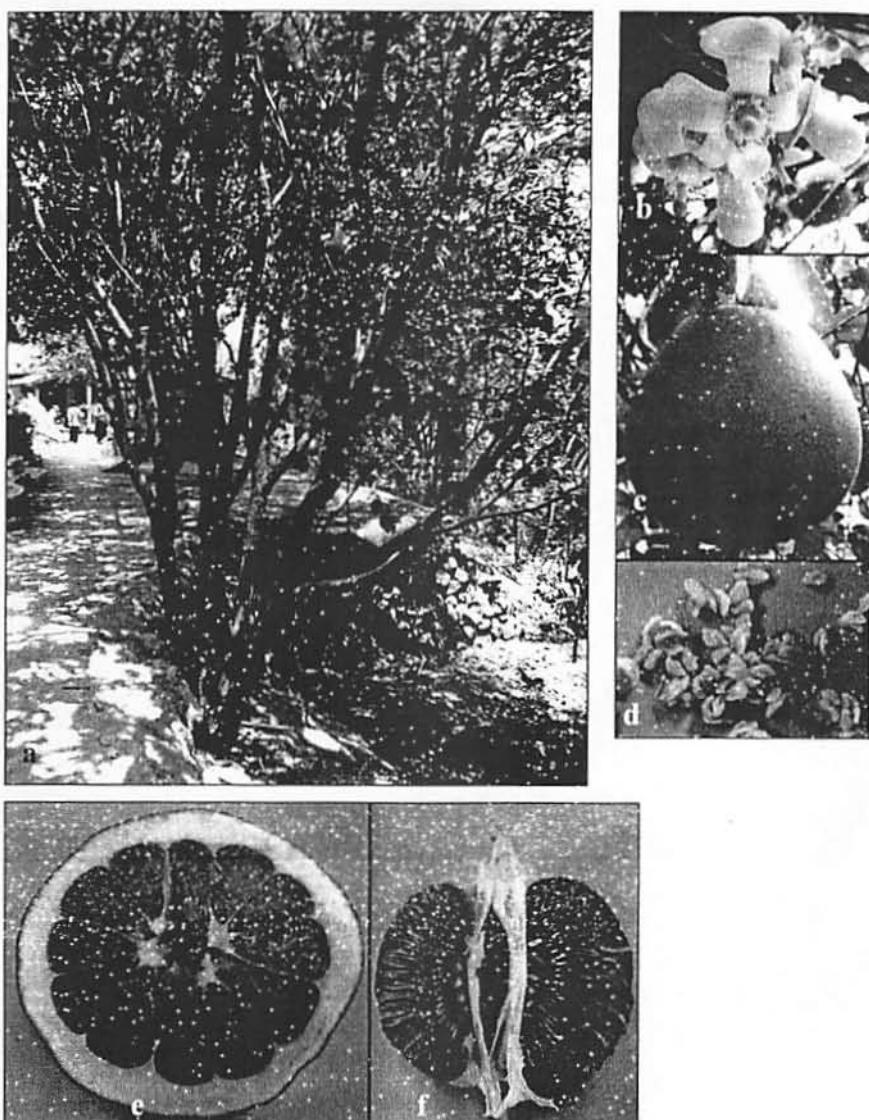
Indonesia sebagai negara kepulauan dan merupakan daerah asal dan penyebaran pamelo sehingga memiliki kekayaan keragaman pamelo. Di beberapa daerah pamelo telah dibudidayakan dan menjadi komoditas ekonomi bagi masyarakat setempat sehingga daerah tersebut menjadi sentra penanaman pamelo seperti di Kabupaten Bireun, Aceh; Kabupaten Sumedang Jawa Barat; Kabupaten Pati dan Kudus Jawa Tengah; Kabupaten Magetan Jawa Timur; dan Kabupaten Pangkep Sulawesi Selatan. Beberapa kultivar pamelo yang dibudidayakan di Indonesia disajikan pada Gambar 3.12-3.19.



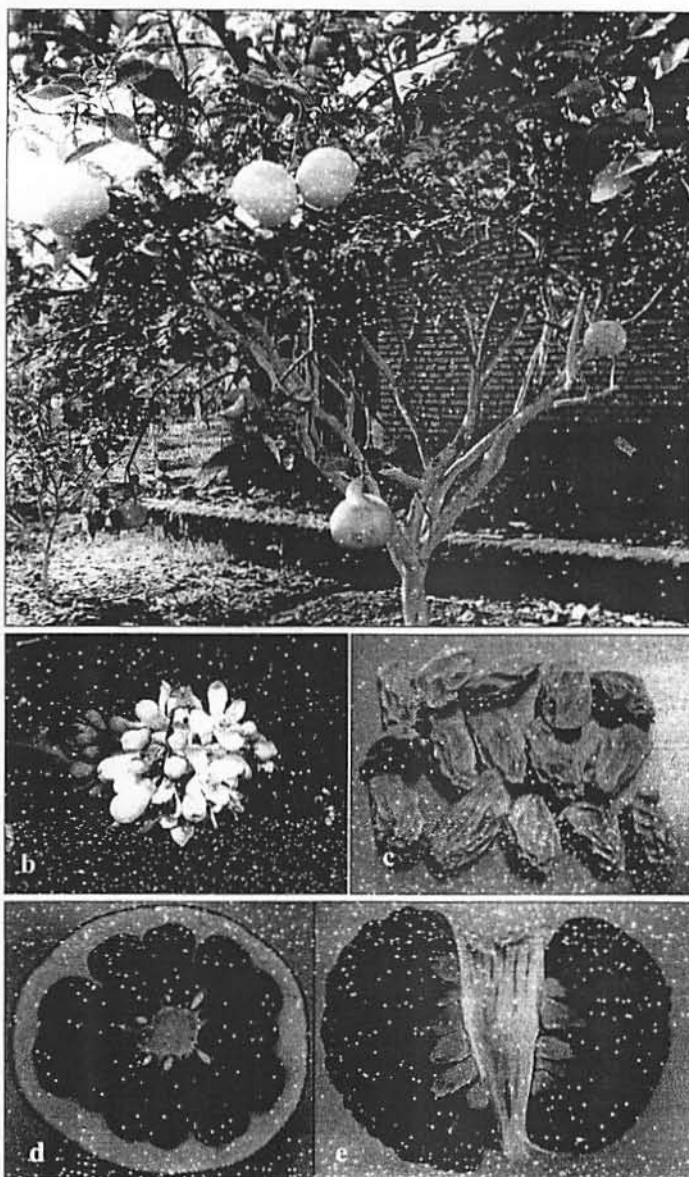
Gambar 3.12. Pamelo Giri Matang (Putih Manis) dari Desa Matang, Bireun, Aceh.  
a. habitus pohon, b. daun, c. bunga, d. pembungkusan buah dengan keranjang dari daun kelapa, e. buah setelah dilepas dari pembungkusnya, f. irisan melintang buah.



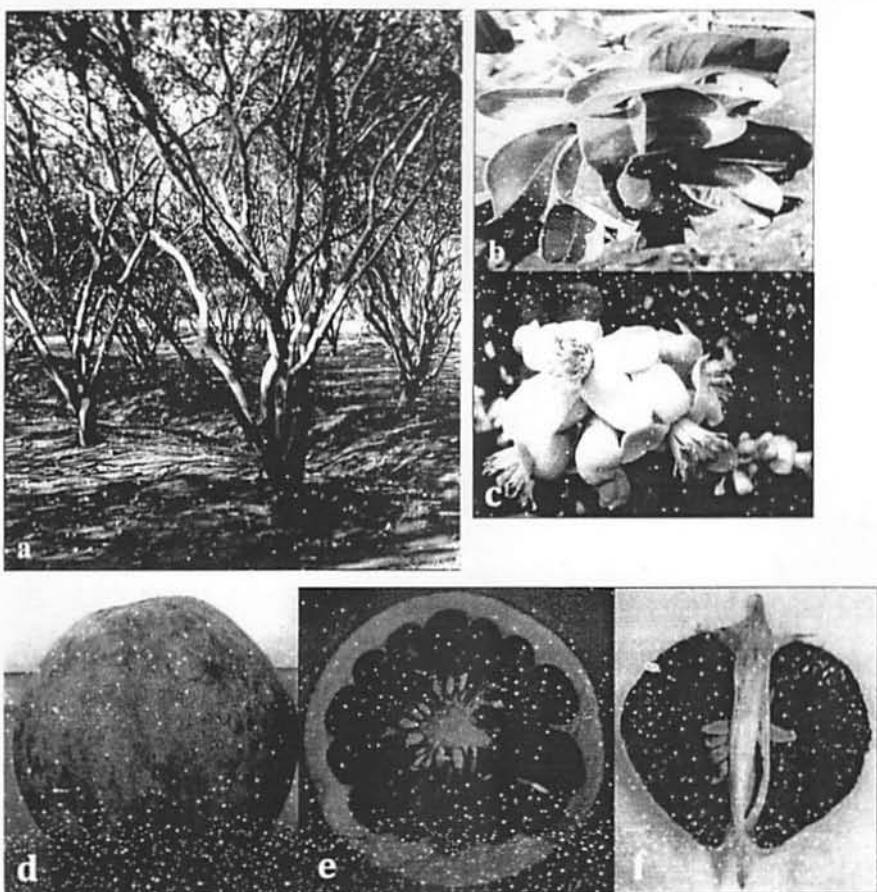
Gambar 3.13. Pamelo 'Cikoneng ST' dari Desa Cikondang Sumedang, Jawa Barat; a. habitus pohon, b. daun, c. bunga, d. buah, e. irisan melintang buah, f. juring buah dengan biji



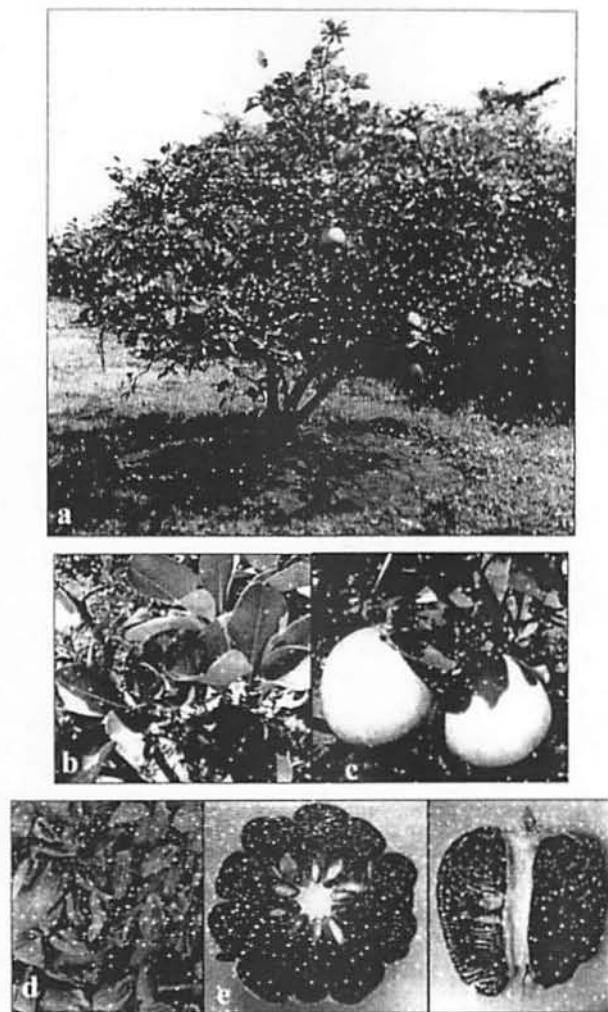
Gambar 3.14. Pamelo 'Bageng Taji' dari Desa Bageng, Pati, Jawa Tengah, a. habitus pohon, b. bunga, c. buah, d. biji yang tidak berkembang, e. Irisan melintang buah,f.juring buah.



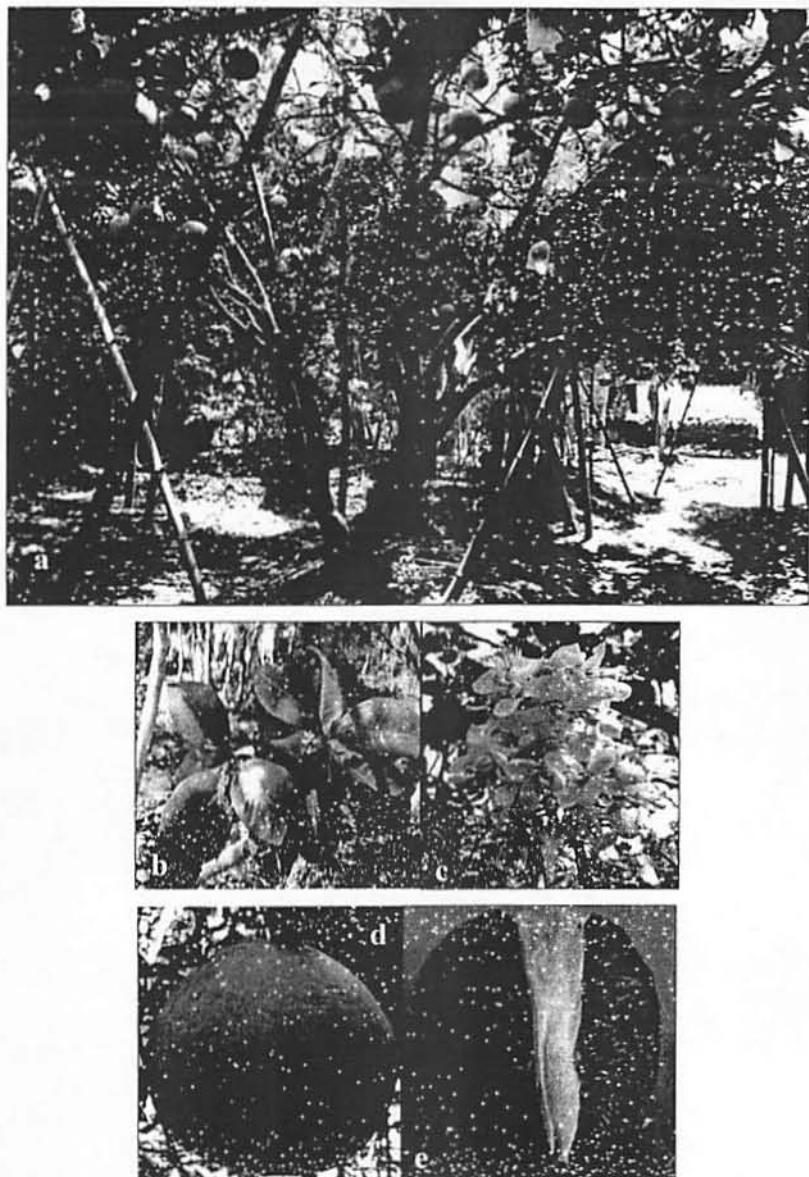
Gambar 3.15. Pampleo Bali Merah dari Magetan Jawa Timur. a. habitus pohon, b. daun dan bunga, c. biji, d. irisan melintang buah, e. juring buah.



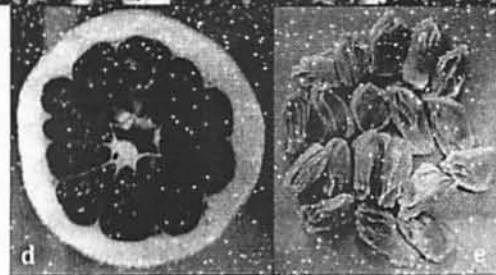
Gambar 3.16. Pamelo 'Nambangan' dari Magetan Jawa Timur a. habitus pohon, b. daun, c. bunga, d. buah, e. irisan melintang buah, f. juring buah.



Gambar 3.17. Pamelo 'Magetan' dari Magetan Jawa Timur. a. habitus pohon, b. daun, c. bunga, d. buah, e. irisan membujur buah dengan biji.



Gambar 3.18. Pamelo Adas Duku dari Magetan Jawa Timur. a. habitus pohon, b. daun, c. bunga, d. buah, e. irisan membujur buah dengan biji.



e

Gambar 3.19. Pamelo 'Jawa' dari Magetan Jawa Timur a. habitus pohon, b. daun, c. buah, d. irisan melintang buah, e. biji.

### **3.2. Kajian Kekerabatan Kultivar Pamelo**

#### **3.2.1. Keragaman Kultivar Pamelo**

Berbeda dengan kebanyakan spesies jeruk lain yang bersifat poliembrioni, biji pamelo bersifat nionoembrioni (Hirai dan Kajiura, 1987). Dengan demikian embrio yang dihasilkan bersifat zigotik, karena merupakan hasil perkawinan antara gamet jantan dan gamet betina, sehingga memiliki keragaman genetik yang lebih tinggi dibandingkan spesies jeruk poliembrioni. Dugaan yang sama disampaikan oleh Uzun *et al.* (2010) yang melaporkan adanya derajat polimorfisme yang tinggi antar berbagai kultivar pamelo, berdasarkan penanda ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*), yang disebabkan oleh sifat monoembrionya.

Adanya keragaman antar kultivar pamelo di Bangladesh berdasarkan karakter morfologi dan kualitas buah telah ditunjukkan oleh Rahman *et al.* (2003) dan Ara *et al.*, (2008). Selain itu Phan *et al.* (2002), mendapatkan adanya keragaman antar kultivar pamelo di Vietnam berdasarkan penanda isoenzim. Keragaman genetik pamelo ini, tidak hanya terdapat antar kultivar, tetapi juga di dalam kultivar yang sama. Quang *et al.*, (2011) berhasil menunjukkan adanya keragaman genetik yang tinggi pada pamelo 'Thanh tra' di Thua Thien Hue, Vietnam, dengan menggunakan penanda RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*).

Dilain pihak Purwanto *et al.* (2002a, 2002b) melaporkan, bahwa keragaman genetik kultivar-kultivar pamelo asal Magetan relatif sempit, baik berdasarkan penanda morfologi maupun isoenzim. Demikian pula dengan pamelo asal Blora (Purwanto *et al.*, 2002c). Agisimanto dan Supriyanto (2007) juga menyatakan bahwa berdasarkan analisis RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*), kultivar pamelo yang berasal dari daerah yang sama (Jawa Timur), walaupun memiliki nama kultivar berbeda,

tetapi secara genetik sama, dengan tingkat kemiripan 100%. Nualsri et al. (2003) melaporkan pula tidak adanya keragaman genetik pada 85 sampel pamelo ‘Hom Hat Yai’ yang diperoleh dari berbagai tempat di Propinsi Songkhla, yang dianalisis menggunakan RAPD. Hal yang sama juga dinyatakan oleh Nartvaranant dan Nartvaranant (2011) yang melaporkan, bahwa kultivar pamelo yang sama yang ditanam di berbagai lokasi memiliki kemiripan genetik yang tinggi, berdasarkan penanda AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*).

### **3.2.2. Karakter yang Potensial Dijadikan Penanda Kultivar Berbiji dan Tidak Berbiji**

Informasi mengenai kultivar buah berbiji dan tidak berbiji belum banyak diketahui, terutama untuk kultivar asli Indonesia. Menurut Vardi et al. (2008), suatu tanaman dianggap menghasilkan buah tidak berbiji jika mampu menghasilkan buah tanpa biji mutlak, biji mengalami aborsi atau memiliki sejumlah biji yang tereduksi. Pada jeruk secara umum, disebut tidak berbiji jika jumlah biji per buah kurang dari lima (Varoquaux et al., 2000), pada grapefruit 0-6 biji (Chacoff dan Aizen, 2007), dan pada mandarin disebut berbiji sedikit bila jumlah biji kurang dari 10 (Altaf dan Khan, 2007). Pada pamelo, suatu kultivar disebut tidak berbiji, bila jumlah biji per buah kurang dari 10, dimasukkan kelompok potensial tidak berbiji, jika dalam satu kultivar terdapat buah berbiji dan tidak berbiji, dan buah berbiji jika jumlah biji per buah  $\geq 10$  (Rahayu et al., 2012). Berdasarkan hal ini, maka dari 19 kultivar pamelo asal Sumedang, Pati, Kudus, Magetan, Aceh dan Pangkajene dan Kepulauan, terdapat 9 kultivar berbiji, 5 kultivar potensial tidak berbiji dan 5 kultivar tidak berbiji (Rahayu et al., 2012).

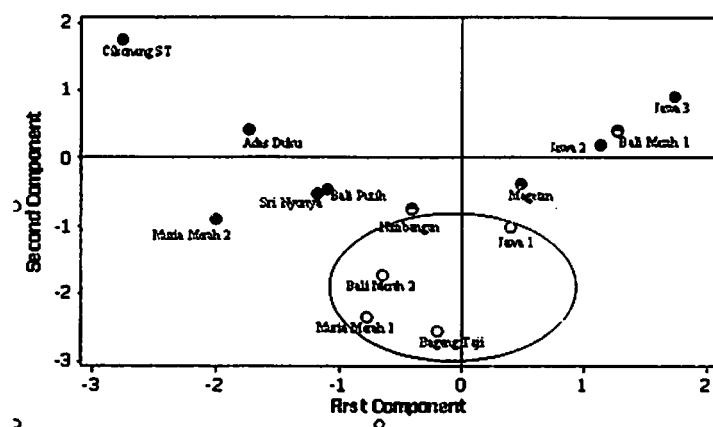
Selain berdasarkan jumlah biji, upaya pembandingan karakter antar kultivar berbiji dan tidak berbiji telah dilakukan dengan berbagai metode.

Pendekatan yang dilakukan diantaranya menggunakan karakter morfologi dan kualitas buah pada apel (Hlušičková dan Blažek, 2006), lici (Yen, 1984), tangerine (Ketsa, 1988) dan pamelo (Rahayu, 2012). Pembedaan secara biokimia menggunakan isoenzim juga dilakukan pada grapefruit di Vietnam (Van *et al.*, 2004) dan Argentina (Chacoff *et al.*, 2009), serta pamelo (Rahayu, 2012). Metode pembandingan lain adalah secara molekuler menggunakan RAPD pada hibrida wampee [*Clausena lansium* (Lour.) Skeels], spesies jeruk yang langka (Zhichang *et al.*, 2010), jeruk 'Mukaku kishu' (*Citrus kinokuni*) (Chavez dan Chapparo, 2011), menggunakan AFLP yang diteruskan dengan penanda SCAR (Ping *et al.*, 2009) pada mandarin 'Ponkan', dan ISSR pada pamelo(Rahayu, 2012).

Secara morfologi, perbedaan antar kultivar jeruk berbiji dan tidak berbiji terutama terdapat pada karakter buah (Quang *et al.*, 2011). Sebagai contoh pada tangerine, jumlah biji berkorelasi dengan diameter buah, bobot buah dan ketebalan kulit buah (Ketsa, 1988). Pada mandarin 'Kinnow' buah tidak berbiji ditandai dengan adanya cincin pada ujung buah (Iqbal *et al.*, 2001). Pada pamelo kultivar tidak berbiji umumnya mempunyai bentuk buah *spheroid*, kondisi aksis buah berongga, dan jumlah biji rata-rata per buah kurang dari 4.

Secara biokimia, isoenzim yang berperan dalam pengelompokan kultivar berbiji dan tidak berbiji pada grapefruit adalah GOT (*Glutamate Oxaloacetate Transaminase*), yang ditandai dengan pita dengan nilai  $R_f=0.31$  dan  $R_f=0.32$  pada kultivar tidak berbiji, dan  $R_f=0.28$  pada kultivar berbiji (Van *et al.*, 2004). Sementara pada pamelo, sistem enzim yang potensial dijadikan penanda antara kultivar berbiji dan tidak berbiji adalah ACP (*Acid Phosphatase*) dengan nilai  $R_f=0.24$ , yang hanya dijumpai pada kultivar tidak berbiji.

Secara molekuler, penanda yang dihasilkan dari BSA (*Bulk Segregant Analysis*) berhubungan dengan wilayah yang mengendalikan sifat tidak berbiji pada anggur (de Lima *et al.*, 2006). Lebih jauh, lokus tidak berbiji pada *Citrus kinokuni* dijumpai pada primer RAPD OPAI11-0.8 pada 8.7 cM, OPAJ19-1.0 pada 8.4 cM, OPM06r-0.85 pada 4.3 cM, dan OPAJ04r-0.6 pada 6.4 cM (Chavez dan Chapparo, 2011). Pada pamelo, analisis menggunakan 15 primer ISSR belum mendapatkan karakter spesifik yang dapat membedakan kultivar berbiji dan tidak berbiji. Walaupun demikian pemetaan dengan analisis komponen utama pada delapan kultivar berbiji, kultivar potensial tidak berbiji dan empat kultivar tidak berbiji telah mengelompokkan kultivar tidak berbiji terpisah dari kultivar berbiji dan potensial tidak berbiji (Gambar 5.1).



**Gambar 5.1.** Analisis komponen utama kemiripan 14 aksesi pamelo menggunakan penanda ISSR yang dipetakan ke dalam bentuk dua sumbu komponen utama yang pertama. (Rahayu 2012)  
Keterangan: ● berbiji, ○ potensial tidak berbiji,  
○ tidak berbiji

### **3.2.3. Hubungan Kekerabatan antara Kultivar Pamelo Berbiji dan Tidak Berbiji**

Dendrogram hasil analisis AFLP yang dihasilkan oleh 97 sampel dari 15 kultivar pamelo di Thailand, belum mengelompokkan kultivar tidak berbiji terpisah dari kultivar berbiji. Namun seluruh kultivar tidak berbiji sudah membentuk sub kelompok dari kultivar berbiji (Nartvaranant dan Nartvaranant, 2011). Sementara itu Chacoff *et al.* (2009) menunjukkan bahwa keragaman genetik pada tiga kultivar grapefruit tidak berbiji, sebagian besar (90%) disebabkan oleh variasi di antara individu dalam satu kebun, sedangkan keragaman antar kebun hanya 10%. Hasil analisis RAPD pada kultivar pamelo dari berbagai daerah di Indonesia, belum dapat secara jelas membedakan antara kultivar berbiji dan tidak berbiji, tetapi salah satu primer (OPN 140) telah mengesankan adanya perbedaan tersebut (Agisimanto dan Supriyanto 2007). Sementara itu analisis secara morfologi dan kualitas buah pada 30 kultivar (Rahman *et al.*, 2003) dan 20 kultivar pamelo (Ara *et al.*, 2008) di Bangladesh tidak mendapatkan kultivar pamelo tidak berbiji.

Hasil pengelompokan berdasarkan karakter morfologi batang, daun, bunga dan buah pamelo asal Sumedang, Pati, Kudus dan Magetan, memisahkan kultivar berbiji dan tidak berbiji pada koefisien kemiripan 0.63. Tingkat kemiripan antara kultivar berbiji dan tidak berbiji berkisar antara 48.5-78.3%. Sementara pengelompokan berdasarkan isoenzim PER (*Peroxidase*), MDH (*Malate Dehydrogenase*), EST (*Esterase*) dan ACP (*Acid Phosphatase*) memisahkan antara kultivar berbiji dan tidak berbiji pada koefisien kemiripan 0.49. Tingkat kemiripan antara kultivar berbiji dan tidak berbiji berkisar antara 23.5-62.5% (Rahayu, 2012).