

## Pengaruh Konsentrasi Kinetin dan NAA Terhadap Perbanyakan Tanaman Jeruk Kisar Secara *In Vitro*

*The Effect of Kinetin and NAA Concentrations On In Vitro Propagation of Kisar Orange*

Ariance Manuputty<sup>1</sup>, Imelda J. Lawalata<sup>1,\*</sup>, Simon H.T. Raharjo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura, Jln. Ir. M. Putuhena, Kampus Poka, Ambon 97233, Indonesia

<sup>2</sup>Program Study Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura, Jln. Ir. M. Putuhena, Kampus Poka, Ambon 97233, Indonesia

\*E-mail Penulis Korespondensi: imeldajlawalata@gmail.com

### ABSTRACT

'Kisar' orange is one of oranges from 'Kisar' Island, Southwest Maluku District. Optimizing media composition for orange micropropagation is indispensable to enhance propagation or multiplication ability and seedling quality. This research aimed to study the effect of combination of plant growth of shoots of 'Kisar' orange and get the optimal combination. The research material were 'Kisar' orange explants from previous shoot cultures on MS medium. The materials for this study were explants of Kisar orange that were previously subcultured on MS medium. This descriptive study involved the use of combination of four treatment levels of kinetin and NAA concentrations, with three replication treatments of kinetin and NAA, consisting of 0,00  $\mu\text{M}$  (control), 0,50  $\mu\text{M}$ , 0,75  $\mu\text{M}$  and 1,00  $\mu\text{M}$ . The results showed that kinetin and NAA treatments in the *in vitro* culture medium gave different effects on shoot growth of 'Kisar' orange. The combination 1,00  $\mu\text{M}$  kinetin and 1,00  $\mu\text{M}$  NAA was the best combination for *in vitro* shoot growth of 'Kisar' orange, while the combination of 1,00  $\mu\text{M}$  kinetin and 0,50  $\mu\text{M}$  NAA was the best for the number of internodes and leaves, and medium with 0.00  $\mu\text{M}$  kinetin and 0.75  $\mu\text{M}$  was the best for explant height.

**Keywords:** *in vitro* propagation, kinetin, Kisar orange, NAA, tissue culture

### ABSTRAK

Jeruk Kisar adalah salah satu jenis jeruk yang berasal dari Pulau Kisar Kabupaten Maluku Barat Daya. Optimalisasi komposisi media untuk perbanyakan jeruk melalui kultur *in vitro* sangat diperlukan untuk meningkatkan kemampuan perbanyakan atau multiplikasi maupun kualitas bibit. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh kinetin dan NAA dalam media kultur *in vitro* terhadap perbanyakan tunas jeruk Kisar dan mendapatkan media yang optimal. Bahan penelitian ini adalah eksplan jeruk Kisar yang sebelumnya disubkulturkan dalam media MS. Penelitian ini dilakukan secara deskriptif dengan empat taraf perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan terdiri atas konsentrasi kinetin dan NAA dengan perlakuan yang sama, yakni 0.00  $\mu\text{M}$  (kontrol), 0.50  $\mu\text{M}$ , 0.75  $\mu\text{M}$  dan 1.00  $\mu\text{M}$ . Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian kinetin dan NAA dalam media kultur *in vitro* memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap perbanyakan tunas Jeruk Kisar. Kombinasi kinetin 1.00  $\mu\text{M}$  dan NAA 1.00  $\mu\text{M}$  merupakan kombinasi terbaik untuk perbanyakan Jeruk Kisar, dilihat dari perkembangan tunas, Kinetin 0.00  $\mu\text{M}$  dan NAA 0.75  $\mu\text{M}$  untuk tinggi eksplan dan kombinasi kinetin 1.00  $\mu\text{M}$  dan NAA 0.50  $\mu\text{M}$  untuk buku batang dan daun.

**Kata Kunci:** jeruk Kisar, kinetin, kultur jaringan, NAA, perbanyakan *in vitro*

### PENDAHULUAN

Tanaman jeruk (*Citrus sp.*) merupakan komoditas pertanian berupa buah yang penting dalam bidang agroindustri, baik sebagai buah segar maupun dalam bentuk olahan. Permintaan jeruk manis meningkat karena harganya yang terjangkau dan kandungannya yang tinggi akan vitamin C (Wulandari *et al.*, 2004). Hal ini merupakan tantangan dan peluang yang baik bagi para petani dan pengusaha jeruk dalam meningkatkan produksi jeruk manis untuk dapat memenuhi permintaan pasar.

Tanaman jeruk dapat digolongkan ke dalam 2 jenis, yaitu jeruk besar dan jeruk kecil. Dalam penelitian ini digunakan jenis jeruk manis varietas Kisar atau disebut jeruk manis Kisar, yang sebenarnya tergolong *orange* (*Citrus sinensis* L). Jeruk Kisar tergolong jeruk berbuah kecil dan merupakan jenis buah endemik di Maluku Tenggara Barat. Berdasarkan deskripsi jeruk manis varietas Kisar, sesuai hasil penelitian dari Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih Pertanian Propinsi Maluku Tahun 2002, nama daerah jeruk manis varietas Kisar adalah jeruk Manis Kisar yang asal

mulanya berada di Desa Wonreli, Pulau Kisar. Jeruk manis (*Citrus sinensis* L. atau *Citrus aurantium* L.) berasal dari India, Timur Laut, Cina Selatan, Birma Utara dan Cobein Cina (daerah sekitar Vietnam).

Keberadaan jeruk manis di Kecamatan Pulau-Pulau Terselatan Provinsi Maluku pertama kali ditemukan di Wonreli, Pulau Kisar, dan menurut pemuka masyarakat di sana jenis jeruk itu telah ada sejak zaman penjajahan Belanda. Jenis jeruk tersebut dikembangkan oleh masyarakat setempat dan selanjutnya menyebar pada desa-desa di Pulau Kisar. Masyarakat setempat kini menamainya sebagai jeruk Kisar. Usaha budidaya jeruk Kisar telah beradaptasi dengan lingkungan setempat dan telah bersifat stabil.

Jeruk Kisar memiliki cita rasa yang berbeda dengan jenis jeruk manis di luar wilayah Maluku. Jenis jeruk ini telah diuji coba pada beberapa tempat di wilayah Kabupaten Maluku Barat Daya dan sebagian wilayah di Propinsi Maluku, Nusa Tenggara Timur dan Negara Timor Leste, dimana produksinya cukup tinggi, namun cita rasanya berbeda dengan cita rasa jeruk Kisar yang dibudidayakan di Pulau Kisar. Dengan pertimbangan kondisi iklim dan cita rasanya, maka pada tahun 1989 jeruk Kisar telah dilepas atau termasuk buah Unggulan Nasional sebagai varietas unggul melalui Keputusan Menteri Pertanian Nomor 864/KPTS/JP.240/ 11/1998, dengan nama jeruk Manis Kisar yang selama ini biasa tumbuh dan berproduksi dengan kualitas yang baik di Pulau Kisar. Jeruk Manis Kisar ini dapat dibudidayakan di seluruh wilayah Kabupaten Maluku Barat Daya dan daerah lain dengan jenis tanah yang sesuai dan ketersediaan air yang cukup (Jacob *et al.*, 2011).

Perbanyakan tanaman jeruk dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu cara generatif dengan biji dan vegetatif dengan menggunakan stek tunas (Anonim, 1994). Perbanyakan yang digunakan dalam penelitian ini adalah perbanyakan vegetatif dengan teknik *in vitro*, yaitu dengan menggunakan jaringan muda dari tanaman jeruk sebagai eksplan atau bahan untuk memulai kultur jaringan tanaman.

Teknik kultur jaringan tanaman atau *in vitro* adalah suatu metode penanaman protoplas, sel, jaringan dan organ pada media buatan dalam kondisi aseptik sehingga dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Lizawati, 2009). Dalam budidaya tanaman dengan menggunakan teknik kultur jaringan, pemilihan eksplan sebagai bahan inokulum awal yang ditanam dalam media perlu diperhatikan karena mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan eksplan tersebut menjadi bibit yang baru. Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah pucuk muda, batang muda, kotiledon dan hipokotil (Gunawan, 1995). Yang menjadi eksplan pada penelitian ini adalah pucuk muda. Menurut Wattimena (1992), perbedaan dari bagian tanaman yang digunakan akan menghasilkan pola pertumbuhan yang berbeda. Eksplan yang masih muda menghasilkan tunas maupun akar adventif lebih cepat dibandingkan dengan bagian yang tua.

Keberhasilan perbanyakan dan pengembangbiakan tanaman dengan metode kultur jaringan secara umum sangat tergantung pada jenis media dan pemberian zat pengatur tumbuh. Untuk mendapatkan hasil yang optimal, penggunaan media tanam dan zat pengatur tumbuh yang tepat merupakan faktor yang penting (Purnamaningsih dan Lestari, 1998). Media tumbuh pada kultur jaringan sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta bibit yang dihasilkannya. Media MS yang paling banyak digunakan untuk berbagai tujuan kultur jaringan tanaman juga digunakan dalam penelitian ini.

Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah persenyawaan organik selain dari nutrien yang dalam jumlah sedikit (<1 mM) dapat merangsang, menghambat atau mengubah pola pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Gunawan, 1995). Dalam kultur jaringan, dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin. Auksin mempunyai peran ganda tergantung pada struktur kimia, konsentrasi, dan jaringan tanaman yang diberi perlakuan. Pada umumnya auksin digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspensi dan akar, yaitu dengan memacu pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan kambium (Pierik, 1987). Pada kultur jaringan, pemakaian konsentrasi yang tepat dari semua zat pengatur tumbuh sangat penting untuk mencapai perbanyakan dan pertumbuhan kultur yang optimal. Pemakaian zat pengatur tumbuh sitokinin dalam perbanyakan secara *in vitro* telah dilakukan oleh Mukhtar *et al.* (2005) pada *Citrus reticulata* dan mendapatkan 1.5 mg/L kinetin yang menghasilkan persentase tunas tertinggi, sedangkan untuk auksin NAA 0.02 mg/L pada penelitian Triatminingsih (2004) pada jeruk Citromelo menghasilkan kecepatan multiplikasi tunas per eksplan.

Penelitian ini diharapkan dapat menyumbangkan pengetahuan tentang teknik perbanyakan tanaman jeruk Kisar secara *in vitro* yang kemudian dapat dimanfaatkan oleh pemerintah untuk mempercepat penyediaan benih dalam rangka pengembangan pertanian jeruk Kisar di Pulau Kisar. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan komposisi media terbaik untuk proses perbanyakan tunas secara *in vitro*, sehingga didapatkan prosedur yang efisien untuk perbanyakan tanaman jeruk Kisar secara cepat dalam waktu yang singkat. Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah (1) kinetin dan NAA 1,00  $\mu$ M paling sesuai untuk perbanyakan tunas pada kultur *in vitro* Jeruk Kisar dan (2) kombinasi antara konsentrasi kinetin dan NAA berpengaruh terhadap perbanyakan tunas pada kultur *in vitro* Jeruk Kisar.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai cara perbanyakan *in vitro* Jeruk Kisar, pengaruh konsentrasi kinetin dan NAA dalam media kultur *in vitro* terhadap pembentukan tunas dalam perbanyakan Jeruk Kisar, serta konsentrasi yang tepat untuk perbanyakan Jeruk Kisar dengan kultur *in vitro*.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura Ambon.

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, botol kultur, gelas ukur, gelas kimia, cawan petri, oven, batang pengaduk, pipet, pinset, lampu bunsen, gunting, autoklav, *laminar air flowcabinet* (LAFC), botol spayer, Erlenmeyer, pH meter, destilator, lampu UV, dan *air conditioner* (AC), kompor gas, dan alat tulis menulis.

Bahan tanaman yang digunakan adalah eksplan Jeruk Manis Kisar yang diambil dari Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian yang berumur 1 bulan dalam kondisi *in vitro*. Selain itu, bahan yang digunakan adalah media MS, gula, agar-agar, NAA, Kinetin, NaOH, HCl, aquades steril, alkohol 70%, spirtus, betadine, air kelapa, kertas label, aluminium foil, kertas wrap, tisu, bayclin.

### Prosedur Penelitian

#### Persiapan

Sebelum digunakan semua peralatan ini dicuci dengan menggunakan sabun sunlight dan pemutih bayclin, kemudian disterilisasi dengan menggunakan oven dan autoklav. Bahan-bahan atau alat yang disterilisasi dengan cara autoklav ini antara lain tutup botol plastik, peralatan gelas, peralatan diseksi, pipet, air murni, dan media kultur. Kondisi autoklav diatur pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15–20 menit. Peralatan yang terbuat dari logam, gelas, aluminium foil, dan lain-lain, disterilisasi dengan cara pemanasan dalam oven pada suhu 130–170°C selama 2–4 jam. Semua peralatan diseksi dibungkus dengan menggunakan aluminium foil atau kertas sebelum di autoklav.

#### Pembuatan larutan stok

Pembuatan larutan stok bertujuan untuk memudahkan pekerjaan dalam membuat media. Stok dibuat sesuai dengan komposisi media dasar MS. Larutan stok A, B, C, D, E, F, G (vitamin) dan H (myo-inositol) serta larutan stok kinetin dan NAA. Setelah dibuat kemudian larutan tersebut disimpan dalam lemari pendingin (kulkas), yang akan dikeluarkan jika akan digunakan. Larutan stok yang sudah dibuat kemudian dipipet dan diencerkan sesuai dengan formula media kultur. Langkah-langkah dalam pembuatan media perlakuan disesuaikan dengan konsentrasi perlakuan yang dijadikan sebagai acuan dalam penelitian, yakni : MS + air kelapa 15 % + Kinetin + NAA + 30 gr gula + agar-agar 8,0 gr. Caranya, Stok A 20 mL, stok B 20 mL, stok C 10 mL, stok D 10 mL, stok E 5 mL, stok F 5 mL, stok G 1 mL, stok H 10 mL + kinetin dan NAA sesuai konsentrasi yang telah ditentukan.

Untuk volume larutan per wadah yang sedikit (< 100 mL), waktu yang dibutuhkan adalah 15 – 20 menit, tetapi untuk jumlah yang besar (2 – 4 liter) selama 30–40 menit. Tekanan diatur agar tidak melebihi dari 20 psi karena dapat mengakibatkan dekomposisi karbohidrat dan bahan lain dalam media yang bersifat termolabile atau mudah terdegradasi oleh suhu tinggi. Media kultur yang telah disterilkan disimpan selama kurang lebih satu minggu sebelum digunakan.

#### Penanaman eksplan

Penanaman eksplan pada media perlakuan dilakukan di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). Proses penanaman dilakukan dengan menggunakan peralatan diseksi (pinset dan gunting), yang sebelum dimasukkan kedalam *laminar* disterilkan terlebih dahulu dan sebelum dipakai dalam proses penanaman digarung diatas api Bunsen. Kemudian gunting dan pinset yang telah digarung dicelupkan dalam alkohol 70% sehingga tetap steril. Pada cawan Petri dituangkan air steril dan antimikroba Betadin secukupnya untuk meletakkan ekplan yang telah dipotong dan dibersihkan untuk selanjutnya ditanam. Eksplan yang akan ditanam diambil dari potongan eksplan sebelumnya, yang dipotong dengan panjang 1 cm tiap eksplan. Tiap satu botol media ditanam dua buah eksplan dengan posisi berdiri dan pangkalnya ditancapkan menyentuh media (dengan kedalaman  $\pm 0.05$  cm). Setelah selesai penanaman diletakkan pada rak-rak penyimpanan dalam ruang penyimpanan kultur (inkubasi), yaitu ruangan yang memiliki suhu sekitar 26°C dengan penyinaran sebesar 20 lux.

#### Pengamatan

Teknik pengamatan peubah pertumbuhan *in vitro* kultur *in vitro* jeruk yang diperbanyak adalah sebagai berikut:

- Tinggi eksplan, yang diamati dengan cara mengukur tinggi batang dari pangkal batang sampai ke pucuk eksplan. Pengamatan dilakukan pada umur kultur 1, 4, 8, dan 12 minggu setelah pengkulturan.
- Jumlah daun total, yang diamati dengan cara menghitung semua daun yang telah terbuka sempurna. Pengamatan dilakukan pada umur kultur 1, 4, 8, dan 12 minggu setelah pengkulturan.

- c. Jumlah buku batang, yang diamati dengan cara menghitung semua buku batang yang terbentuk. Pengamatan dilakukan pada umur kultur 4, 6, 8, dan 10 minggu setelah pengkulturan.
- d. Jumlah tunas total, yang diamati dengan cara menghitung semua tunas yang tumbuh. Pengamatan dilakukan pada umur kultur 4, 6, 8, dan 10 minggu setelah pengkulturan.
- e. Jumlah akar dihitung saat eksplan dibongkar/dikeluarkan dari botol, dan dilakukan pengukuran.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh konsentrasi kinetin dan NAA terhadap tanaman jeruk Kisar secara *in vitro* selama 12 minggu untuk mengetahui perbedaan rata-rata pada Tabel 1,2,3 dan 4.

Tabel 1. Tinggi eksplan, (rata-rata±SE) minggu 1, 4, 8, 12 setelah pengkulturan

Perlakuan	Minggu			
	1	4	8	12
K0N0	1.00±0.00	1.16±0.16	1.62±0.24	0.83±0.00
K0N1	1.00±0.00	1.16±0.16	1.50±0.25	1.37±0.03
K0N2	1.00±0.00	1.16±0.16	1.55±0.14	1.53±0.03
K0N3	1.00±0.00	1.00±0.00	1.18±0.20	0.76±0.38
K1N0	1.00±0.00	1.50±0.50	1.58±0.00	1.38±0.19
K1N1	1.00±0.00	1.58±0.30	1.65±0.48	1.35±0.02
K1N2	1.00±0.00	1.33±0.33	1.33±0.33	0.67±0.33
K1N3	1.00±0.00	1.33±0.33	5.15±0.08	0.50±0.28
K2N0	1.00±0.00	1.15±0.07	1.30±0.51	0.88±0.19
K2N1	1.00±0.00	1.00±0.00	1.20±0.10	1.13±0.13
K2N2	1.00±0.00	1.00±0.00	0.92±0.22	1.36±0.18
K2N3	1.12±0.12	0.98±0.27	1.13±0.13	0.91±0.22
K3N0	1.00±0.00	1.00±0.00	0.98±0.16	1.22±0.23
K3N1	1.00±0.00	1.00±0.00	1.13±0.17	1.36±0.11
K3N2	1.00±0.00	1.00±0.00	0.85±0.15	0.33±0.33
K3N3	1.00±0.00	1.00±0.00	1.17±0.17	1.25±0.14

Data rata-rata tinggi eksplan disajikan pada Tabel 1, yang memberikan data yang bervariasi sesuai dengan perlakuan. Dilihat dari rata-ratanya tinggi eksplan pada 16 kombinasi pada minggu 1, 4, 8 dan 12 setelah pengkulturan pada beberapa kombinasi memberikan tinggi eksplan 1.00 cm. Gambar 1 menunjukkan kultur *in vitro* jeruk Kisar diukur panjang atau tingginya pada minggu 4. Pada minggu ke-12 pada kombinasi perlakuan K3N2 (kinetin 1.00  $\mu$ M dan NAA 0.75  $\mu$ M) tinggi eksplan 0.33 cm pada minggu yang sama pada kombinasi K0N2 (kinetin 0.00  $\mu$ M dan NAA 0.75  $\mu$ M) dengan tinggi eksplan 1.53 cm.



Gambar 1. Kultur *in vitro* jeruk Kisar diukur panjang atau tingginya pada minggu 4

Zat pengatur tumbuh kinetin pada media meningkatkan jumlah ruas. Jumlah ruas meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi kinetin sampai konsentrasi tertentu yang bisa berakibat menurunnya jumlah ruas. Kinetin mempunyai fungsi antara lain mendorong pembelahan dan pemanjangan sel (Wattimena, 1998 dalam Lizawati, 2009). Kenyataan yang diperoleh dengan zat pengatur tumbuh NAA yang memberikan hasil tinggi eksplan 1.53 cm, kemungkinan karena adanya sitokinin alami yang terdapat pada air kelapa untuk membantu pertumbuhan tinggi eksplan.

Pengrauh perlakuan pada jumlah daun pada minggu 1, 4, 8 dan 12 setelah pengkulturan dapat dilihat pada Tabel 2. Jumlah daun dari tiap perlakuan sangat berbeda. Pada kombinasi perlakuan K3N2 (kinetin 1.00  $\mu\text{M}$  dan NAA 0.75  $\mu\text{M}$ ), memberikan penurunan pada jumlah daun, rata-rata jumlah daun pada minggu ke 12 yaitu 0.00  $\mu\text{M}$ . Gugurnya daun kemungkinan disebabkan karena adanya etilen yang adalah salah satu hormon tumbuh yang bersifat gas dan selalu terbentuk pada setiap jaringan tanaman yang mengalami penuaan atau stress. Kombinasi perlakuan pada K3N1 (kinetin 1.00  $\mu\text{M}$  dan NAA 0.50  $\mu\text{M}$ ), rata-rata jumlah daun pada minggu ke-12 memberikan peningkatan pada jumlah daun sampai mencapai 6,17 lembar dengan standar error (SE) 2,35. Kemungkinan daun meningkat pada kombinasi tersebut karena ZPT NAA dapat meningkatkan persentase eksplan bertunas. Persentase eksplan meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah daun. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa pemberian kinetin 1.00  $\mu\text{M}$  berpengaruh baik pada jumlah daun bila dikombinasikan dengan NAA pada konsentrasi rendah. Gambar 2 menunjukkan kultur *in vitro* jeruk Kisar pada perlakuan kombinasi K3N1 dan perlakuan K3N2

Jumlah daun dengan konsentrasi kinetin 0.50  $\mu\text{M}$  dan NAA 0.00  $\mu\text{M}$  (kontrol) memiliki lebar daun lebih besar dibandingkan lebar daun pada kombinasi perlakuan yang lain dikarenakan ZPT kinetin lebih berperan dalam proses pembelahan sel dan kemungkinan juga disebabkan karena intensitas cahaya yang didapat untuk fotosintesis sangat baik.

Tabel 2. Jumlah daun, (rata-rata $\pm$ SE) minggu 1, 4, 8, 12 setelah pengkulturan

Perlakuan	Minggu			
	1	4	8	12
K0N0	4.00 $\pm$ 0.00	0.67 $\pm$ 0.33	1.50 $\pm$ 0.28	3.17 $\pm$ 0.44
K0N1	4.00 $\pm$ 0.00	2.33 $\pm$ 0.88	2.17 $\pm$ 0.72	4.67 $\pm$ 0.60
K0N2	4.17 $\pm$ 0.16	3.33 $\pm$ 1.66	1.92 $\pm$ 0.68	3.50 $\pm$ 0.22
K0N3	4.00 $\pm$ 0.00	3.17 $\pm$ 0.44	2.33 $\pm$ 0.66	3.67 $\pm$ 0.88
K1N0	4.00 $\pm$ 0.00	3.33 $\pm$ 0.66	2.17 $\pm$ 0.60	2.17 $\pm$ 0.48
K1N1	4.00 $\pm$ 0.00	3.33 $\pm$ 0.66	2.58 $\pm$ 0.46	5.33 $\pm$ 0.44
K1N2	4.00 $\pm$ 0.00	3.00 $\pm$ 1.00	1.33 $\pm$ 0.33	0.67 $\pm$ 0.33
K1N3	4.00 $\pm$ 0.00	3.33 $\pm$ 0.66	1.83 $\pm$ 0.44	2.50 $\pm$ 2.02
K2N0	4.00 $\pm$ 0.00	4.83 $\pm$ 0.60	2.33 $\pm$ 0.16	3.50 $\pm$ 1.25
K2N1	4.00 $\pm$ 0.00	4.17 $\pm$ 0.16	2.83 $\pm$ 0.33	3.67 $\pm$ 0.83
K2N2	4.00 $\pm$ 0.00	3.67 $\pm$ 0.33	4.00 $\pm$ 0.00	3.83 $\pm$ 1.48
K2N3	4.33 $\pm$ 0.33	5.67 $\pm$ 0.66	2.50 $\pm$ 0.50	4.17 $\pm$ 1.64
K3N0	4.00 $\pm$ 0.00	3.67 $\pm$ 0.33	3.00 $\pm$ 1.00	2.17 $\pm$ 0.44
K3N1	4.00 $\pm$ 0.00	3.17 $\pm$ 1.09	2.75 $\pm$ 0.38	6.17 $\pm$ 2.35
K3N2	4.00 $\pm$ 0.00	2.17 $\pm$ 0.16	2.33 $\pm$ 0.33	0.00 $\pm$ 0.00
K3N3	4.00 $\pm$ 0.00	3.00 $\pm$ 0.57	2.33 $\pm$ 0.16	2.67 $\pm$ 0.44



Gambar 2. Kultur *in vitro* jeruk Kisar pada perlakuan kombinasi K3N1 dan perlakuan K3N2

Hasil pengamatan jumlah buku batang pereksplan tertera pada Tabel 3. Sesuai dengan hasil yang diperoleh pada minggu ke-10 dengan kombinasi K3N1 (kinetin 1.00  $\mu\text{M}$  dan NAA 0.50  $\mu\text{M}$ ) yaitu 1.67 buku. Hasil menunjukkan bahwa terdapat pengaruh kombinasi antara kinetin dan NAA terhadap jumlah buku (propagul). Kemungkinan ZPT NAA yang diberikan sudah optimal, karena semakin tinggi taraf NAA disertai semakin sedikit jumlah buku. Buku-buku tersebut kemudian akan membentuk tunas, hal ini diperoleh pada perlakuan kinetin dengan konsentrasi tinggi. Gambar 3 menunjukkan kultur *in vitro* jeruk Kisar pada perlakuan kombinasi K3N1. Sesuai dengan penelitian dari Priyono dan Winarsih (2000) bahwa pada setiap buku (propagul) mampu menghasilkan tunas pada kombinasi zat pengatur tumbuh kinetin dan NAA yang tepat.

Tabel 3. Jumlah buku batang, (rata-rata±SE) minggu 4, 6, 8, 10 setelah pengkulturan

Perlakuan	Minggu			
	4	6	8	10
K0N0	0.67±0.66	0.67±0.66	0.67±0.66	1.67±0.66
K0N1	0.00±0.00	0.33±0.33	0.67±0.66	0.83±0.60
K0N2	0.00±0.00	0.67±0.66	0.00±0.00	0.17±0.16
K0N3	0.00±0.00	0.00±0.00	0.33±0.33	0.50±0.28
K1N0	0.33±0.33	0.67±0.66	0.33±0.33	1.00±1.00
K1N1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.33±0.33	0.17±0.16
K1N2	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
K1N3	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
K2N0	0.33±0.33	0.33±0.33	1.00±1.00	0.33±0.33
K2N1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
K2N2	1.00±1.00	1.00±1.00	0.33±0.33	0.83±0.60
K2N3	0.00±0.00	2.00±0.57	0.00±0.00	0.33±0.33
K3N0	1.00±1.00	2.00±0.57	1.17±0.16	1.00±1.00
K3N1	0.00±0.00	0.67±0.66	1.00±1.00	1.67±0.66
K3N2	0.00±0.00	0.67±0.66	1.50±0.28	1.00±1.00
K3N3	1.67±0.20	2.00±0.57	1.67±0.66	1.67±0.66



Gambar 3. Kultur *in vitro* jeruk Kisar pada perlakuan kombinasi K3N1

Tabel 4. Jumlah tunas, (rata-rata±SE) minggu 4,6, 8, 10 setelah pengkulturan

Perlakuan	Minggu			
	4	6	8	10
K0N0	0.33±0.33	0.66±0.66	0.33±0.33	0.50±0.50
K0N1	0.00±0.00	0.33±0.33	0.66±0.66	1.17±0.44
K0N2	0.00±0.00	0.66±0.66	0.33±0.33	0.50±0.50
K0N3	0.00±0.00	0.00±0.00	0.66±0.66	0.50±0.50
K1N0	0.17±0.16	1.00±0.00	0.66±0.66	0.33±0.33
K1N1	0.00±0.00	0.33±0.33	1.00±0.00	0.33±0.33
K1N2	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	1.00±0.00
K1N3	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
K2N0	0.17±0.16	0.00±0.00	0.66±0.66	0.33±0.33
K2N1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.66±0.66	1.00±0.00
K2N2	0.50±0.50	1.00±0.00	0.00±0.00	0.67±0.44
K2N3	0.00±0.00	0.00±0.00	0.66±0.66	0.00±0.00
K3N0	0.67±0.66	2.00±0.57	0.66±0.66	0.67±0.44
K3N1	0.00±0.00	0.66±0.66	1.00±0.00	1.00±0.00
K3N2	0.00±0.00	0.66±0.66	1.00±0.00	1.00±0.00
K3N3	0.83±0.60	2.00±0.57	2.66±0.33	3.00±1.00

Dilihat dari rata-ratanya tunas mulai tampak pada minggu ke-4 setelah pengkulturan. menunjukkan bahwa adanya tunas baru yang mulai tumbuh pada ruas paling bawah yang bersinggungan dengan media. Pertumbuhan tunas jeruk meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Konsentrasi kombinasi perlakuan kinetin dan NAA pada

konsentrasi tertentu meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk. Hal ini sesuai dengan penelitian dari Triatmingsih (2004) bahwa 0.02 mg/L NAA meningkatkan kecepatan multiplikasi tunas citromelo.

Rata-rata jumlah tunas pada minggu ke-10 disajikan pada Tabel 4. Dapat dilihat bahwa pada kombinasi perlakuan K3N3 (kinetin 1.00  $\mu$ M dan NAA 1.00  $\mu$ M) terbentuk tunas sebanyak 3.00. Zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin tidak bekerja sendiri-sendiri, tetapi kedua ZPT tersebut bekerja secara kombinasi dalam mengarahkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Jika dibandingkan dengan kombinasi K1N3 (kinetin 0.50  $\mu$ M dan NAA 1.00  $\mu$ M) tidak terdapat tunas, sampai pada minggu ke-10. Kemungkinan kinetin dan NAA yang diberikan tidak sesuai untuk pertumbuhan tunas, dikarenakan perlu adanya peningkatan konsentrasi sampai 1.00  $\mu$ M dan pertumbuhan tunas menjadi semakin banyak. Gambar 4 menunjukkan kultur *in vitro* jeruk Kisar pada perlakuan kombinasi K3N3.



Gambar 4. Kultur *in vitro* jeruk Kisar pada perlakuan kombinasi K3N3

#### Jumlah akar

Pengaruh konsentrasi dari ZPT belum bisa dilihat dari jumlah akar dikarenakan belum adanya akar pada keseluruhan eksplan sampai minggu ke-12. NAA berperan dalam pembentukan akar dan menginduksi akar yang lebih baik (Sasmitamiharja, 1996 dalam Mahadi *et al.*, 2015), namun pada konsentrasi yang diberikan tidak sesuai dengan apa yang ditargetkan. Ini kemungkinan karena kurangnya konsentrasi NAA yang diberikan. Skoog dan Miler 1957 dalam Suhariyanto (2011) menyatakan bahwa jika auksin tinggi dan sitokinin rendah maka terbentuknya akar dan sebaliknya auksin rendah sitokinin tinggi akan mendorong terbentuknya tunas. Selain itu pada tanaman tertentu pembentukan akar sangat sulit sehingga diperlukan media tumbuh yang mengandung auksin.

### KESIMPULAN

Kesimpulan-kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Sesuai hasil yang diperoleh dari peubah tinggi eksplan Jeruk Kisar, hasil terbaik terjadi pada kombinasi K0N2 (kinetin 0.00  $\mu$ M dan NAA 0.75  $\mu$ M) yaitu rata-rata 1,53 cm
2. Sebagian besar eksplan menghasilkan daun dengan jumlah daun terbanyak terdapat pada kombinasi K3N1 (kinetin 1.00  $\mu$ M dan NAA 0.50) mencapai jumlah rata-rata 6,17.
3. Kombinasi K1N1 (kinetin 0.50  $\mu$ M dan NAA 1.00  $\mu$ M) dan K1N2 (kinetin 0.50  $\mu$ M dan NAA 0.75  $\mu$ M) tidak menghasilkan buku batang baru. Sedangkan kombinasi K3N1 (kinetin 1.00  $\mu$ M dan NAA 0.50  $\mu$ M) menghasilkan rata-rata 1,67 buku batang.
4. Jumlah tunas rata-rata terbanyak terjadi pada kombinasi K3N3 (kinetin 1.00  $\mu$ M dan NAA 1.00  $\mu$ M) sebanyak 3.00.

### DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1994. *Budidaya Tanaman Jeruk*. Kanisius. Yogyakarta. ISBN : 979-497-095-6  
 Gunawan. L.W. 1995. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Jakarta.

- Jacob. A.,F. Puturuhi, F. Polnaya, G. Agustyn, H. Jesajas dan J. Rupilu. 2011. Survey Informasi Dasar Jeruk Kisar di Pulau Kisar Kabupaten Maluku Barat Daya (MBD). Laporan Penelitian Kerjasama Dinas Pertanian dan Peternakan Kabupaten MBD dan Fakultas Pertanian Universitas Pattimura Ambon.
- Lizawati, T. Novita dan R. Purnamaningsih. 2009. Induksi dan multiplikasi tunas jarak pagar (*Jatropha curcas* L) secara *in vitro*. *J. Agron. Indonesia* 37(1):78-85. DOI: 10.24831/jai.v37i1.1398
- Mahadi I, W. Syafi'i dan S. Agustini. 2015. Kultur jaringan Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*) dengan menggunakan hormon kinetin naftalen acetyl acid (NAA). *Jurnal Dinamika Pertanian*, 30(30): 37-44. P: ISSN 0215-2525 E: ISSN 2549-7960
- Mukhtar, R, M.M Khan, R. Rafiq, A. Shahid and F.A. Khan. 2005. *In vitro* regeneration and somatic embryogenesis in (*Citrus aurantifolia* and *Citrus sinensis*). *Internat. J. Agric. Biol.* 1560–8530/2005/07–3–518–520. <http://www.ijab.org>
- Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhoff Publisher. London 344 p. ISBN: 9401718547, 9789401718547
- Priyono dan S. Winarsih. 2000 Pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap pembentukan dan perbanyakan tunas mikro pada asparagus secara *in vitro*. *J. Hort.* 10(1):11:17
- Purnamaningsih, R dan E.G. Lestari. 1998. Multiplikasi tunas temu giring melalui kultur *in vitro*. *Buletin Plasma Nutfah* 1(5): 24-27. <https://repository.pertanian.go.id/handle/123456789/12426>
- Suharijanto. 2011. Induksi Tunas Jeruk Pamelu (*Citrus maxima* Merr.) Kultivar Bageng Secara *In Vitro* Dengan Pemberian Jenis dan Konsentrasi Sitokinin. Tesis. Program Studi Agronomi, Fakultas Pasca Sarjana, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Triatminingsih, R dan Karsinah. 2004. Perbanyakan bibit jeruk Citromelo dan JC secara *in vitro*. *J. Hort* 14(4);238-245. DOI: 10.21082/jhort.v14n4.2004.p238-245
- Wattimena. G. A. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. IPB. Bogor.