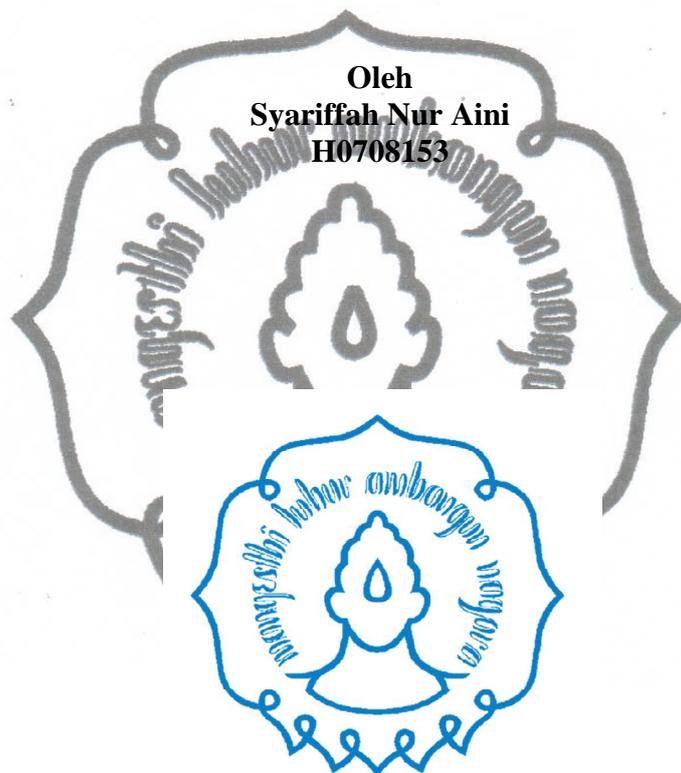


**SKRIPSI**

**MULTIPLIKASI TUNAS JERUK KEPROK TAWANGMANGU  
(*Citrus nobilis* L.) DENGAN VARIASI KONSENTRASI IBA DAN KINETIN**

Oleh  
Syariffah Nur Aini  
H0708153



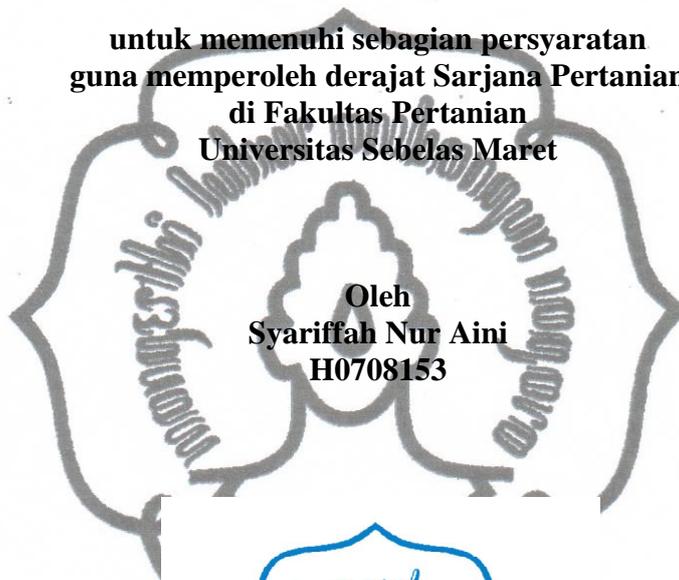
**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA  
2012**

**MULTIPLIKASI TUNAS JERUK KEPROK TAWANGMANGU  
(*Citrus nobilis* L.) DENGAN VARIASI KONSENTRASI IBA DAN KINETIN**

**SKRIPSI**

**untuk memenuhi sebagian persyaratan  
guna memperoleh derajat Sarjana Pertanian  
di Fakultas Pertanian  
Universitas Sebelas Maret**

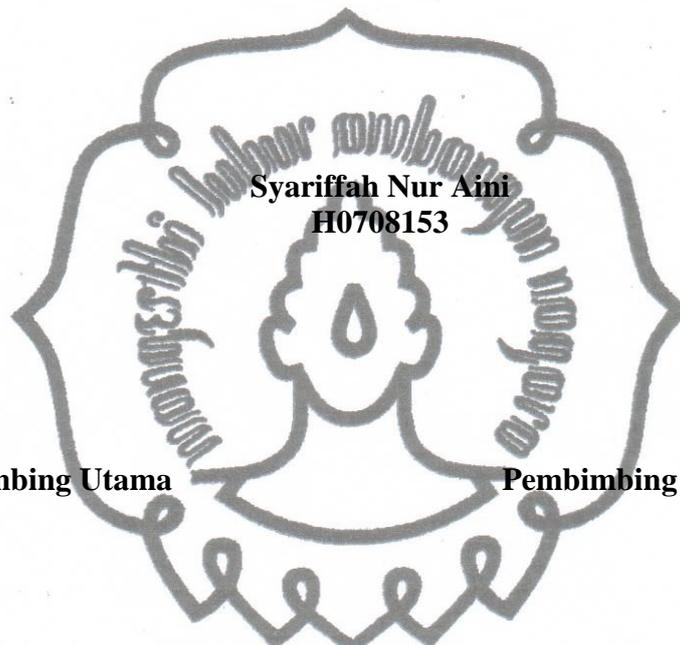
**Oleh  
Syariffah Nur Aini  
H0708153**



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA  
2012**

**SKRIPSI**

**MULTIPLIKASI TUNAS JERUK KEPROK TAWANGMANGU  
(*Citrus nobilis* L.) DENGAN VARIASI KONSENTRASI IBA DAN KINETIN**



**Syariffah Nur Aini  
H0708153**

**Pembimbing Utama**

**Pembimbing Pendamping**

**Dr. Samanhudi, SP. MSiProf.Dr.Ir. Ahmad Yunus. MS**  
**NIP.196806101995031003 NIP.196107171986011001**

**Surakarta, September 2012  
Fakultas Pertanian  
Dekan**

**Prof. Dr. Ir. Bambang Pujiasmanto, MS**  
**NIP.195602251986011001**  
*commit to user*

**SKRIPSI**

**MULTIPLIKASI TUNAS JERUK KEPROK TAWANGMANGU  
(*Citrus nobilis* L.) DENGAN VARIASI KONSENTRASI IBA DAN KINETIN**



**Susunan Tim Penguji:**

**Ketua Anggota I Anggota II**

**Dr. Samanhudi, SP, MSi Prof. Dr. Ir. Ahmad Yunus, MS Drs. Sugijono, MP**  
**NIP.196806101995031003 NIP.196107171986011001 NIP.194709161980032001**

*commit to user*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “Multiplikasi Tunas Jeruk Keprok Tawangmangu (*Citrus nobilis* L.) dengan Variasi Konsentrasi IBA dan Kinetin” ini dengan baik.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan dan penyusunan skripsi ini dapat berjalan baik dan lancar karena adanya pengarahan, bimbingan, dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Prof.Dr.Ir. Bambang Pujiasmanto, MS selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Dr.Ir.Hadiwiyono,MSi selaku ketua program studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Dr.Samanhudi,SP,MSi selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, saran dan sumbangan pemikiran kepada penulis selama pelaksanaan penelitian sampai akhir penulisan skripsi ini.
4. Prof.Dr.Ir.Ahmad Yunus, MS selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis dalam penelitian hingga akhir penulisan skripsi ini.
5. Drs.Sugijono,MP selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan masukan dan saran serta pengarahan agar skripsi ini lebih baik.
6. Ir.Sri Nyoto,MS selaku Dosen Pembimbing Akademik atas bimbingan dan masukannya selama kuliah, penelitian sampai skripsi ini.
7. Ibu Einstivina Nuryandani selaku pemilik proyek “Jeruk Keprok Tawangmangu” atas kepercayaan dan bantuannya sampai selesainya skripsi ini.
8. Mas Joko dan Bu Wangi selaku laboran Lab.Fisiologi dan Bioteknologi FP UNS atas bimbingan dan bantuannya selama ini.

*commit to user*

9. Ayahku tercinta (Sarno Hadiwitono), Ibuku tersayang (Nur Hidayati) dan kakakku terhebat (Syarifudin NK) atas doa, kasih sayang, bimbingan dan segalanya yang telah diberikan pada penulis selama ini.
10. Probo SH dan Martha DJ atas dukungan, motivasi dan segala bantuannya selama ini, tidak akan selancar ini tanpa bantuan dari kalian.
11. Teman-teman seperjuangan di kultur jaringan (Tyas, Gunawan, Wiwin, Taufik, Zaenal) dan biotek (Maryati) atas segala bantuannya dan keceriaan selama ini.
12. Teman-teman Gocelu dan Solmated'08 atas pertemanan, bantuan dan dukungannya selama ini.
13. Teman-teman Fakultas MIPA (Putri dan Alfa) atas segala bantuannya.
14. Semua pihak yang telah membantu demi kelancaran penelitian dan penuliskripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Namun demikian, penulis berharap skripsi ini dapat memberi manfaat untuk pengembangan ilmu pengetahuan selanjutnya. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya.

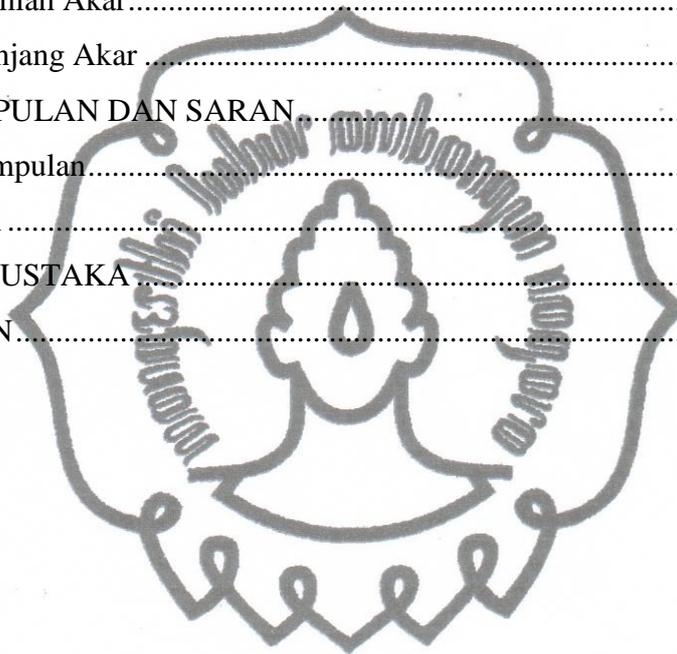
Surakarta, September 2012

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUTAN.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
RINGKASAN .....	x
<i>SUMMARY</i> .....	xi
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tanaman Jeruk .....	4
B. Kultur Jaringan .....	6
C. Jenis Eksplan .....	7
D. Zat Pengatur Tumbuh.....	8
E. Hipotesis .....	10
III. METODE PENELITIAN.....	11
A. Tempat dan Waktu Penelitian .....	11
B. Bahan dan Alat Penelitian .....	11
C. Perancangan Penelitian dan Analisis Data .....	11
D. Pelaksanaan Penelitian .....	12
E. Pengamatan Peubah .....	14
F. Analisis Data .....	15
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	16
A. Kondisi Umum Penelitian .....	16

B. Penyajian Hasil Penelitian .....	18
1. Saat Muncul Tunas .....	18
2. Jumlah Tunas .....	20
3. Jumlah Daun .....	23
4. Tinggi Tunas .....	25
5. Saat Muncul Akar .....	27
6. Jumlah Akar .....	29
7. Panjang Akar .....	31
V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	34
A. Kesimpulan .....	34
B. Saran .....	34
DAFTAR PUSTAKA .....	35
LAMPIRAN .....	39



**DAFTAR TABEL**

<b>Nomor</b>	<b>Judul dalam Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1.	Hasil pengamatan saat muncul tunas <i>C. nobilis</i> (9 MST) .....	40
2.	Hasil pengamatan jumlah tunas <i>C. nobilis</i> (9 MST) .....	40
3.	Hasil pengamatan jumlah daun <i>C. nobilis</i> (9 MST) .....	41
4.	Hasil pengamatan tinggi tunas <i>C. nobilis</i> (9 MST) .....	41
5.	Hasil pengamatan saat muncul akar <i>C. nobilis</i> (9 MST) .....	42
6.	Hasil pengamatan jumlah akar <i>C. nobilis</i> (9 MST) .....	42
7.	Hasil pengamatan panjang akar <i>C. nobilis</i> (9 MST) .....	43



*commit to user*

## DAFTARGAMBAR

<b>Nomor</b>	<b>Judul dalam Teks</b>	<b>Halaman</b>
1.	Histogram pengaruh IBA dan kinetin terhadap saat muncul tunas <i>C. nobilis</i> secara <i>in vitro</i> (9 MST) .....	19
2.	Histogram pengaruh IBA dan kinetin terhadap jumlah tunas <i>C. nobilis</i> secara <i>in vitro</i> (9 MST).....	21
3.	Jenis tunas <i>C. nobilis</i> (a) tunas aksilar (b) tunas apikal.....	22
4.	Histogram pengaruh IBA dan kinetin terhadap jumlah daun <i>C. nobilis</i> secara <i>in vitro</i> (9 MST).....	23
5.	Kerontokan daun <i>C. nobilis</i> pada kombinasi IBA 1,5 ppm dan kinetin 2 ppm (9 MST).....	24
6.	Histogram pengaruh IBA dan kinetin terhadap tinggi tunas <i>C. nobilis</i> secara <i>in vitro</i> (9 MST).....	25
7.	Histogram pengaruh IBA dan kinetin terhadap saat muncul akar <i>C. nobilis</i> secara <i>in vitro</i> (9 MST) .....	27
8.	Saat muncul akar <i>C. nobilis</i> pada kombinasi IBA 0 ppm dan kinetin 0,5 ppm (7 MST).....	28
9.	Histogram pengaruh IBA dan kinetin terhadap jumlah akar <i>C. nobilis</i> secara <i>in vitro</i> (9 MST).....	30
10.	Akar <i>C. nobilis</i> pada kombinasi IBA 0,5 ppm dan kinetin 0,5 ppm (9MST) .....	31
11.	Histogram pengaruh IBA dan kinetin terhadap jumlah akar <i>C. nobilis</i> secara <i>in vitro</i> (9 MST).....	32
<b>Nomor</b>	<b>Judul dalam Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
8.	Foto-foto Penelitian Jeruk Keprok Tawangmangu ( <i>C. nobilis</i> ) ....	44
9.	Foto akhir pengamatan <i>C. nobilis</i> (9 MST).....	45

## RINGKASAN

**MULTIPLIKASI TUNAS JERUK KEPROK TAWANGMANGU (*Citrus nobilis* L.) DENGAN VARIASI KONSENTRASI IBA DAN KINETIN.** Skripsi: Syariffah Nur Aini (H0708153). Pembimbing: Samanhudi, Ahmad Yunus, Sugijono. Program Studi: Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta.

Jeruk keprok Tawangmangu merupakan komoditas unggulan Jawa Tengah pada tahun 1980an. Keberadaannya saat ini sudah sedikit karena penyakit CVPD yang menyebabkan sebagian besar tanamannya musnah. Permintaan impor jeruk yang terus meningkat dapat dijadikan peluang pasar untuk pengembangan jeruk keprok Tawangmangu. Hal ini perlu didukung dengan penyediaan bibit yang banyak, seragam dan cepat. Salah satu solusinya adalah perbanyak secara *in vitro* dengan penambahan IBA dan kinetin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi IBA dan kinetin yang tepat untuk multiplikasi tunas jeruk keprok Tawangmangu secara *in vitro*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta mulai Januari 2012 sampai Juli 2012, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor perlakuan. Faktor pertama adalah konsentrasi IBA yang terdiri atas 4 taraf: 0; 0,5; 1; 1,5 ppm dan faktor kedua adalah konsentrasi kinetin yang terdiri atas 4 taraf: 0,5; 1; 1,5; 2 ppm. Terdapat 16 kombinasi perlakuan, tiap perlakuan diulang tiga kali. Data pengamatan dianalisis dengan analisis uji F taraf 5%. Jika terdapat beda nyata, maka dilanjutkan dengan uji DMRT taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terjadi interaksi antara IBA dan kinetin. Kombinasi perlakuan IBA 1,5 ppm dan kinetin 1 ppm menghasilkan jumlah tunas terbanyak (2,33 tunas) dan menghasilkan jumlah daun terbanyak (8,33 daun). Perlakuan IBA 1 ppm dan kinetin 1 ppm merupakan yang tercepat dalam saat muncul tunas (4 HST). Tinggi tunas terbaik pada kombinasi IBA 1 ppm dan kinetin 2 ppm (8,33 mm). Perlakuan IBA 0,5 ppm dan kinetin 0,5 ppm menghasilkan saat muncul akar tercepat (43 HST) dan jumlah akar terbanyak (1,33 akar). Panjang akar terbaik pada kombinasi IBA 1 ppm dan kinetin 0,5 ppm (15 mm).

## SUMMARY

**SHOOTS MULTIPLICATION OF TAWANGMANGUORANGE (*Citrus nobilis* L.) WITH VARIATION OF IBA AND KINETIN CONCENTRATIONS.** Skripsi. Syariffah Nur Aini (H0708153). Advisers: Samanhuri, Ahmad Yunus, Sugijono. Study program: Agrotechnology, Faculty of Agriculture, University of Sebelas Maret (UNS) Surakarta.

Tawangmangu orange was the leading commodities of Central java in the 1980s. Its existence was a little because CVPD disease that causes most of vegetation destroyed. Import request of orange which constantly increasing can be used for the development of market opportunities Tawangmangu orange. This needs to be supported by the provision of many seedlings, same and fast. One solution is duplication by *in vitro* with the addition of IBA and kinetin. This research aims to knowing the right concentration of IBA and kinetin for shoots multiplication of Tawangmangu orange by *in vitro*.

This research was conducted in Plant Physiology and Biotechnology Laboratory of Agriculture Faculty, Sebelas Maret University Surakarta from Januari 2012 until Juli 2012, used factorial design with two factors based on Completely Randomized Design. The first factor was IBA concentrations consist of four levels: 0; 0.5; 1; 1.5 ppm and the second factor was kinetin concentrations consist four levels: 0.5; 1; 1.5; 2 ppm. There were 16 combination treatments, each of them was repeated for three times. The observation data were analyzed with analysis of variance and if significant continued with DMRT test at 5% level.

The results showed that the interaction was not occur between IBA and kinetin. Combination treatment of 1.5 ppm IBA and 1 ppm kinetin produced the largest number of shoots (2.33 shoots) and produced the largest number of leaves (8.33 leaves). Treatment of 1 ppm IBA and 1 ppm kinetin was the fastest to accelerate the shoot initiation time (4 DAP). The best of shoots high at combination 1 ppm IBA and 2 ppm kinetin (8.33 mm). Treatment of 0.5 ppm IBA and 0.5 ppm kinetin produced the fastest of root initiation time (43 DAP) and the largest number of roots (1.33 roots). The best of roots long at combination of 1 ppm IBA and 0.5 ppm kinetin (15mm).

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Jeruk (*Citrus* sp.) adalah tanaman tahunan yang berasal dari Asia Tenggara. Sejak ratusan tahun lalu, tanaman ini sudah terdapat di Indonesia, baik sebagai tanaman liar maupun sebagai tanaman pekarangan (Soelarso 1996). Jeruk merupakan salah satu buah favorit masyarakat Indonesia. Berdasarkan data BPS, Indonesia termasuk negara pengimpor jeruk terbesar kedua di ASEAN setelah Malaysia, dengan volume impor jeruk manis sebesar 127.041 ton selama kurun waktu 2005-2009 dengan setara dengan US \$ 17.464.186/tahun. Sedangkan untuk jenis keprok atau mandarin, selama kurun waktu 2005-2009 mencapai 504.063 ton dengan nilai mencapai US \$ 80.569.300/tahun (Herdiyanto, 2011).

Peningkatan impor buah jeruk dapat dijadikan peluang pasar sekaligus peluang pengembangan jeruk nasional menjadi komoditas unggulan. Besarnya peluang pengembangan jeruk didukung dengan potensi yang dimiliki Indonesia antara lain banyaknya sentra produksi jeruk, tingginya keragaman sumber daya genetik jeruk, ketersediaan varietas jeruk dan ketersediaan pasar. Menurut Dimiyati (2011) jeruk keprok merupakan salah satu harapan yang nantinya mampu menggantikan pasar jeruk-jeruk impor. Jeruk keprok mempunyai berbagai varietas seperti jeruk keprok varietas Grabag, Tawangmangu, Batu 55, Garut, SoE serta varietas introduksi seperti jeruk Freemont, Sunkist dan Chokun.

Salah satu jenis jeruk yang pernah menjadi unggulan Jawa Tengah pada tahun 1980an adalah jeruk keprok Tawangmangu (*Citrus nobilis* Lour.). Saat ini jenis jeruk keprok Tawangmangu sudah sulit ditemukan di pasaran. Hal ini karena serangan *Citrus Vein Phloem Degeneration* (CVPD). Serangan penyakit tersebut menyebabkan sebagian besar tanaman jeruk keprok Tawangmangu musnah. Saat ini jumlah tanaman yang tersisa hanya sedikit. Padahal penyediaan bibit yang baik merupakan tahap yang sangat penting dalam produksi jeruk terutama untuk memenuhi permintaan perusahaan industri skala besar yang menghendaki bibit dalam jumlah besar, seragam, cepat dan kontinyu.

*commit to user*

Secara konvensional, jeruk diperbanyak melalui biji dan stek. Kendala yang dihadapi dari perbanyakan konvensional ini adalah terbatasnya bahan baku dan kekhawatiran rusaknya tanaman induk apabila dilakukan stek terus menerus. Melalui kultur jaringan, biji jeruk dapat ditumbuhkan secara steril untuk dijadikan eksplan berupa stek mikro. Teknik kultur jaringan diharapkan dapat memenuhi kebutuhan bibit berkualitas secara kontinyu dalam jumlah banyak dan waktu singkat. Beberapa varietas jeruk yang telah berhasil diperbanyak melalui kultur jaringan adalah *Citrus nobilis* (Samanhudi et al. 2010), *Citrus maxima* Burm. (Rahman et al. 2008), *Citrus maxima* Merr. (Suharijanto 2011), *Citrus nobilis* var. *Chrysocarpa* (Nurhayati 2004) dan *Citrus grandis* Osbeck (Suminar et al. 2006).

Dalam budidaya tanaman dengan menggunakan teknik kultur jaringan, pemberian zat pengatur tumbuh merupakan salah satu hal penting. Unsur hara dalam kultur jaringan diperoleh dari penambahan ZPT (zat pengatur tumbuh) tertentu. Salah satu jenis ZPT sintetik dari golongan auksin adalah IBA (*Indole 3-Butyric Acid*), sedangkan dari golongan sitokinin adalah kinetin (*6-Furfuryl Amino Purine*). ZPT golongan auksin dapat menginisiasi akar dan memacu perkembangan akar cabang pada kultur jaringan sedangkan ZPT golongan sitokinin dapat memecah dormansi sel dan mempunyai peranan dalam morfogenesis dan pembelahan sel serta menstimulasi pembentukan tunas (Fauzi 2010). Hasil percobaan terbukti bahwa 75% spesies tanaman membentuk tunas jika menggunakan kinetin atau BAP (*6-Benzyl Amino Purin*) dengan konsentrasi antara 0,5- 46  $\mu$ M (Hendaryono dan Wijayani 1994). Auksin sintetik yang sering digunakan untuk menginduksi perakaran *in vitro* adalah NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan IBA dalam konsentrasi rendah (Dodds dan Roberts 1995). Dengan penambahan ZPT dalam media kultur jaringan, diharapkan dapat memacu pertumbuhan dan perkembangan eksplan.

## B. Perumusan Masalah

1. Berapakah konsentrasi IBA dan kinetin yang tepat untuk multiplikasi tunas jeruk keprok Tawangmangu secara *in vitro*?
2. Adakah interaksi penggunaan konsentrasi IBA dan kinetin pada multiplikasi tunas jeruk keprok Tawangmangu secara *in vitro*?
3. Bagaimana hasil yang didapatkan dari kombinasi berbagai konsentrasi IBA dan kinetin pada multiplikasi tunas jeruk keprok Tawangmangu secara *in vitro*?

## C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mendapatkan komposisi konsentrasi IBA dan kinetin yang tepat untuk multiplikasi tunas jeruk keprok Tawangmangu secara *in vitro*
2. Mengetahui interaksi berbagai konsentrasi IBA dan kinetin pada multiplikasi tunas jeruk keprok Tawangmangu secara *in vitro*
3. Mengetahui hasil yang didapatkan dari kombinasi berbagai konsentrasi IBA dan kinetin pada multiplikasi tunas jeruk keprok Tawangmangu secara *in vitro*

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tanaman Jeruk

Jeruk merupakan komoditi buah yang paling populer di dunia setelah anggur. Dewasa ini perkebunan jeruk sedang mulai digiatkan di Indonesia. Hasilnya masih dipergunakan untuk mencukupi kebutuhan dalam negeri. Jenis utama yang paling banyak dikembangkan adalah jeruk keprok, karena mudah perawatannya, banyak hasilnya dan sangat laku di pasaran sebagai buah segar (Sarwono 1993).

Pengembangan jeruk menyebar dari dataran rendah sampai dataran tinggi. Di dataran rendah hingga 700 m dpl, jeruk yang sesuai adalah jeruk siam (*Citrus sinensis*) dan jeruk besar atau pamelo (*Citrus maxima*). Di dataran tinggi di atas 700m dpl, jeruk keprok (*Citrus nobilis*) lebih sesuai daripada jeruk Siam. Jeruk keprok merupakan salah satu harapan yang nantinya mampu menggantikan pasar jeruk-jeruk impor. Jeruk keprok mempunyai berbagai varietas seperti jeruk keprok varietas Grabag, Tawangmangu, Batu 55, Garut, SoE serta varietas introduksi seperti jeruk Freemont, Sunkist dan Chokun (Dimiyati 2011).

Tanaman jeruk keprok berbatang rendah, tingginya antara 2-8 m. Tanaman ini ada yang berduri, ada pula yang tidak. Tajuk pohon tidak beraturan, dahan kecil, cabangnya banyak, tajuknya rindang dan letak dahan terpenjar. Daun berbentuk tunggal, kecil dan bertangkai pendek. Warnanya hijau tua mengkilat pada permukaan atas dan hijau muda pada permukaan bawah. Tangkai daun tidak bersayap (Sarwono 1993).

Tanaman jeruk keprok asli Tawangmangu yang dibudidayakan di Tawangmangu mempunyai tinggi antara 4,86-8,97 m. Tanaman ini tidak mempunyai duri dan diameter batangnya antara 8,27-24,82 cm. Selain itu bentuk tajuknya sebagian besar adalah tidak beraturan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 95% dari tanaman jeruk bentuk tajuknya tidak beraturan, hanya 5% yang mempunyai bentuk payung. Sedangkan bentuk percabangan semuanya menunjukkan asimetris. Buahnya mempunyai aroma dan bau yang tajam serta bentuk dari buah terdapat tonjolan seperti pusar, tekstur lembut dan lunak. Warna

kulit hijau sampai kuning tua, hal ini tergantung dari umur buah karena umur dari buah yang dipetik berbeda. Begitu juga dengan berat buah, buah yang mempunyai ukuran sama tapi beratnya berbeda karena kandungan air pada buahnya berbeda. Berat buah rata-rata jeruk keprok asli Tawangmangu 62,98 g. Diameter buah 5,19 cm dengan bentuk buah bulat berlekuk dan di dalamnya terdapat rongga udara yang cukup lebar. Warna daging buah orange dengan rata-rata jumlah juring 10,5. Buah yang masak sempurna rasanya manis dengan aroma yang tajam. Bentuk bijinya bulat pipih dengan warna biji krem/coklat muda (Giyanti 2001).

Di masa lalu, Tawangmangu terkenal karena jeruk keprok. Jeruknya manis, dengan penampilan jauh lebih menarik dibanding jeruk serupa dari Medan atau Tebas (Kalimantan Barat). Sayangnya wabah CVPD yang terjadi sekitar empat dasawarsa silam telah memusnahkan semua tanaman jeruk di Jawa. Sekarang hanya ada Jeruk Bali (pomelo), alpukat dan strawberry di tempat ini selain wortel, kol dan sayur mayur yang lain (Adi 2011).

Pohon induk jeruk keprok yang merupakan tanaman asli induk jeruk keprok dari daerah tersebut hanya terdapat di dua desa yaitu di desa Blumbang dan Gondosuli. Selebihnya pohon-pohon jeruk tersebut berasal dari hasil penanaman baru pada tahun 2000-an dengan bibit pohon jeruk keprok yang berasal dari sumbangan pemerintah, dalam hal ini melalui Departemen Pertanian Kabupaten Karanganyar. Tanaman jeruk hasil penanaman tahun 1970-an umumnya telah berbentuk pohon dengan tinggi lebih dari 2,5 meter, kecuali untuk keturunan hasil cangkok dari pohon induk jeruk keprok Tawangmangu yang umumnya masih berukuran sekitar 1-2 meter. Perbedaan lain yang bisa dilihat antara bibit asli dan bibit hasil bantuan dari pemerintah adalah umumnya pohon induk jeruk keprok Tawangmangu asli biasanya diperbanyak melalui cangkok oleh penduduk, sedangkan bibit jeruk keprok bantuan dari pemerintah merupakan hasil okulasi dengan batang bawah biasanya menggunakan pohon jeruk JC (Japanese citruen) (Nuryandani 2012).

Biji jeruk keprok Tawangmangu bersifat poliembrional, artinya dalam 1 biji terdapat lebih dari 1 embrio yang dapat tumbuh. Embrio yang berasal dari hasil pembuahan disebut embrio *genetik*, sedangkan embrio yang bukan berasal

dari hasil pembuahan disebut embrio somatik. Embrio somatik mempunyai sifat sama dengan induknya (Utama 2002).

## B. Kultur Jaringan

Kultur jaringan tanaman merupakan teknik menumbuhkembangkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan atau organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro*. Teknik ini dicirikan oleh kondisi kultur yang aseptik, penggunaan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi lengkap dan ZPT (zat pengatur tumbuh) serta kondisi ruang kultur yang suhu dan pencahayaannya terkontrol (Yusnita 2004). Pelaksanaan kultur jaringan diawali dari munculnya teori totipotensi, yaitu setiap sel tanaman yang hidup dilengkapi dengan informasi genetik dan perangkat fisiologis yang lengkap untuk tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh, jika kondisi lingkungan sesuai. Kondisi totipotensi tanaman berbeda-beda bahkan pada satu jenis tanaman (Santoso dan Nursandi 2004).

Teknik kultur jaringan adalah mengisolasi bagian tanaman seperti daun dan mata tunas serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh, dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga tanaman dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Rahardja dan Wiryanta 2003). Perbanyakannya secara *in vitro* merupakan suatu perbanyakan dengan cara mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplas, sel, jaringan dan organ serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali (Prahardani et al. 1994). Penerapan teknik kultur jaringan pada tanaman hortikultura telah sejak lama menjadi kajian para ahli perbanyakan tanaman maupun bagian dari usaha komersial. Pada tanaman jeruk, teknik ini juga telah berhasil diterapkan pada beberapa spesies seperti *Citrus unshiu*, *Citrus junos* dan *Citrus grandis* (Zulkarnain et al. 1997).

Perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan memiliki banyak kelebihan, yakni tanaman dapat diperbanyak setiap saat tanpa tergantung musim, daya multiplikasi tinggi dari bahan tanam yang kecil mampu menghasilkan bibit yang banyak dalam waktu relatif singkat, tidak memerlukan tempat luas, tanaman

yang dihasilkan seragam, bebas penyakit terutama bakteri dan cendawan. Jenis tanaman yang diperbanyak dengan teknik kultur jaringan terutama ditujukan bagi tanaman yang bermasalah seperti daya perkecambahan bijinya rendah, tanaman hibrida yang tua jantannya mandul, tanaman langka dan tanaman yang selalu diperbanyak dengan vegetatif (Widyastuti 2002). Kultur jaringan akan berhasil dengan baik apabila syarat-syarat yang dibutuhkan dapat dipenuhi, antara lain: pemilihan eksplan, penggunaan media yang sesuai, keadaan yang aseptik dan pengaturan lingkungan tempat tumbuh yang sesuai (Santoso dan Nursandi 2004).

Teknik budidaya *in vitro* ini bisa mengatasi kendala yang sering dijumpai pada masalah seputar penyediaan bibit, misalnya: bisa menyediakan bibit yang seragam, dalam waktu yang relatif singkat, tidak tergantung pada musim, serta bebas penyakit. Tata cara pembiakan tanaman secara kultur jaringan dibagi menjadi beberapa tahap, yaitu persiapan eksplan, inisiasi kultur, multiplikasi (penggandaan bahan tanam), pemanjangan tunas, pembentukan akar serta aklimatisasi (Yusnita 2004).

### C. Jenis Eksplan

Selain media, keberhasilan perbanyakan secara kultur jaringan juga ditentukan oleh eksplan atau bagian tanaman yang akan dikultur, umur fisiologi, dan ukuran eksplan. Umumnya, bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah jaringan yang masih muda yang sedang tumbuh aktif. Jaringan tanaman yang masih muda mempunyai daya regenerasi tinggi, sel-selnya aktif membelah diri, dan relatif lebih bersih (Yusnita 2004).

Eksplan adalah bahan tanaman yang dipakai untuk perbanyakan tanaman dengan sistem kultur jaringan (Hendaryono dan Wijayani 1994). Menurut Hughes (1980) eksplan adalah bagian kecil jaringan atau organ yang dikeluarkan atau dipisahkan dari tanaman induk kemudian dikulturkan. Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah biji atau bagian-bagian biji, tunas pucuk, potongan batang, potongan akar, potongan daun, potongan umbi batang, umbi akar, empulur batang, umbi lapis dengan sebagian batang, dan bagian bunga (Yusnita 2004).

Ukuran, umur, sumber dan genotip eksplan ikut menentukan keberhasilan kultur *in vitro*. Eksplan yang terlalu kecil daya tahan untuk hidup kurang bagus dan tingkat kegagalannya tinggi. Sebaliknya, eksplan yang terlalu besar akan mudah terkontaminasi dan mudah menggulung sehingga bagian eksplan yang kontak dengan medium sedikit (George dan Sherrington 1984). Faktor lain yang juga tidak kalah penting adalah pemilihan eksplan diantaranya organ sumber eksplan, umur organ, musim, ukuran dan kualitas tanaman induk (Nurwahyuni dan Elimasni 2005). Eksplan yang digunakan adalah jaringan muda yang sedang tumbuh aktif, karena jaringan tanaman yang masih muda mempunyai daya regenerasi yang lebih tinggi, sel-selnya masih aktif membelah diri dan relatif bersih (mengandung lebih sedikit kontaminan). Sementara itu, jaringan tanaman yang sudah tua lebih sulit beregenerasi dan biasanya mengandung lebih banyak kontaminan (Yusnita 2004).

#### **D. Zat Pengatur Tumbuh**

Ahli biologi tumbuhan telah mengidentifikasi 5 tipe utama golongan ZPT yaitu auksin, giberelin, sitokinin, asam absisat, etilen. Auksin, yaitu suatu bahan organik yang dihasilkan oleh tumbuh-tumbuhan berklorofil dan berfungsi mengatur pertumbuhan dan fungsi fisiologi lain dalam tanaman di luar jaringan tempat auksin dihasilkan serta aktif dalam jumlah yang sangat kecil sekali pun (Rismunandar 1986).

Kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam medium merupakan faktor utama penentu keberhasilan kultur *in vitro*. Zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan antara lain auksin, sitokinin dan giberelin. Hormon-hormon ini sering digunakan karena mempunyai kemampuan untuk merangsang pertumbuhan eksplan dan mempengaruhi pertumbuhan akar. Dari ketiga jenis hormon ini yang paling sering digunakan adalah auksin dan sitokinin (Wetherell 1982).

Pemberian sitokinin dengan kadar yang lebih tinggi dari auksin akan menghasilkan tunas atau pucuk. Namun ketika auksin dan sitokinin diberikan dalam jumlah yang sama, terbentuk kalus. Jadi perbandingan auksin dan sitokinin

akan mempengaruhi inisiasi tunas maupun akar (Mukherjee dan Ghosh 1996). Menurut Hartman dan Kester (1997) bahwa sitokinin merupakan ZPT yang merangsang pembentukan tunas dan pembelahan sel terutama jika diberikan bersama-sama auksin.

Auksin terbagi menjadi beberapa jenis yaitu IAA (*Indole Acetik Acid*), IBA, NAA dan 2,4 D (*2,4 D – Dichlorophenoxy Acetic Acid*) (Wudianto 1998). Auksin secara umum menyebabkan perpanjangan sel, pembesaran sel, pembentukan kalus dan pembentukan akar (Pierek, 1987); mendorong pertumbuhan pucuk (Wattimena, 1992). Auksin sangat diperlukan dalam pertumbuhan organogenesis termasuk dalam pembentukan akar. Kombinasi auksin dengan konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan inisiasi dan induksi akar pada kultur (Gaspar et al. 1996).

Kebanyakan auksin alami memiliki gugus indol. Auksin sintetik memiliki struktur yang berbeda-beda. Beberapa auksin alami adalah asam indolasetat (IAA) dan asam indolbutirat (IBA). Auksin sintetik (dibuat oleh manusia) banyak macamnya, yang umum dikenal adalah asam naftalenasetat (NAA), asam beta-naftoksiasetat (BNOA), asam 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D), dan asam 4-klorofenoksiasetat (4-CPA) (Pratiwi, 2012).

Golongan sitokinin yang umum digunakan adalah BA (*6-Benzyl Adenine*) dan kinetin. Golongan ini sangat penting dalam pengaturan sel dan morfologis (Gunawan 1988). Fungsi utama sitokinin adalah memacu pembelahan sel (Wetherell 1982). Menurut Fitrianti (2006) salah satu sitokinin sintetik yang mempunyai aktivitas tinggi dalam memacu pembelahan sel adalah kinetin. Sitokinin alami merupakan turunan dari purin. Sitokinin sintetik kebanyakan dibuat dari turunan purin pula, seperti N6-benziladenin (N6-BA) dan 6-benzilamino-9-(2-tetrahidropiraniil-9H-purin) (PBA) (Pratiwi, 2012).

### E. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah :

1. Terdapat komposisi konsentrasi IBA dan kinetin yang tepat untuk multiplikasi tunas jeruk keprok Tawangmangu secara *in vitro*
2. Terjadi interaksi berbagai konsentrasi IBA dan kinetin pada multiplikasi tunas jeruk keprok Tawangmangu secara *in vitro*
3. Kombinasi berbagai konsentrasi IBA dan kinetin berpengaruh terhadap hasil multiplikasi tunas jeruk keprok Tawangmangu secara *in vitro*



### III. METODE PENELITIAN

#### A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta pada bulan Januari 2012 sampai Juli 2012.

#### B. Bahan dan Alat Penelitian

##### 1. Bahan-bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan berupa stek mikro jeruk keprok Tawangmangu, media *Murashige and Skoog* (MS), zat pengatur tumbuh IBA dan kinetin, aquadest, clorox, spirtus, alkohol dan detergen.

##### 2. Alat-alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*), *tissue*, *autoclave*, kertas label, *magnetic stirrer*, *hand sprayer*, petridish, rak kultur, labu takar, plastik PP (polypropilen) 0,3 mm, pipet, peralatan diseksi, timbangan analitik, pinset besar dan kecil, botol-botol kultur, alumunium foil, karet gelang, lemari pendingin, *beker glass*, pisau scalpel.

#### C. Perancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian ini akan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor perlakuan. Faktor pertama adalah konsentrasi IBA dan faktor kedua adalah konsentrasi kinetin.

1. Konsentrasi IBA dengan 4 taraf, sebagai berikut :

A1 = tanpa penambahan IBA

A2 = penambahan IBA 0,5 ppm

A3 = penambahan IBA 1 ppm

A4 = penambahan IBA 1,5 ppm

2. Konsentrasi kinetin dengan 4 taraf, sebagai berikut :

B1 = penambahan kinetin 0,5 ppm

B2 = penambahan kinetin 1 ppm

B3 = penambahan kinetin 1,5 ppm

B4 = penambahan kinetin 2 ppm

Berdasarkan dua faktor tersebut, maka ada 16 kombinasi yang terbentuk dan setiap kombinasi diulang tiga kali. Kombinasi perlakuan yang terbentuk sebagai berikut :

A1B1 = perlakuan tanpa penambahan IBA+kinetin 0,5 ppm

A1B2 = perlakuan tanpa penambahan IBA+kinetin 1 ppm

A1B3 = perlakuan tanpa penambahan IBA+kinetin 1,5 ppm

A1B4 = perlakuan tanpa penambahan IBA+kinetin 2 ppm

A2B1 = perlakuan penambahan IBA 0,5 ppm+kinetin 0,5 ppm

A2B2 = perlakuan penambahan IBA 0,5 ppm+kinetin 1 ppm

A2B3 = perlakuan penambahan IBA 0,5 ppm+kinetin 1,5 ppm

A2B4 = perlakuan penambahan IBA 0,5 ppm+kinetin 2 ppm

A3B1 = perlakuan penambahan IBA 1 ppm+kinetin 0,5 ppm

A3B2 = perlakuan penambahan IBA 1 ppm+kinetin 1 ppm

A3B3 = perlakuan penambahan IBA 1 ppm+kinetin 1,5 ppm

A3B4 = perlakuan penambahan IBA 1 ppm+kinetin 2 ppm

A4B1 = perlakuan penambahan IBA 1,5 ppm+kinetin 0,5 ppm

A4B2 = perlakuan penambahan IBA 1,5 ppm+kinetin 1 ppm

A4B3 = perlakuan penambahan IBA 1,5 ppm+kinetin 1,5 ppm

A4B4 = perlakuan penambahan IBA 1,5 ppm+kinetin 2 ppm

#### **D. Pelaksanaan Penelitian**

##### **1. Pembuatan Larutan Stok**

Pembuatan larutan stok yaitu dengan menimbang bahan-bahan kimia, hara makro, hara mikro, vitamin maupun Fe-EDTA sesuai komposisi media MS. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan aquades dan diaduk sampai homogen dengan *magnetic stirrer*, kemudian dimasukkan botol dan diberi label pada tiap botolnya sesuai dengan perlakuan dan disimpan dalam lemari pendingin.

## 2. Pembuatan Media Tanam

Pembuatan media tanam dengan mengambil dan menakar masing-masing larutan stok sesuai dengan perlakuan dan ukuran yang telah ditentukan kemudian memasukkannya ke dalam labu takar. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan aquades sampai volume larutan mencapai 1 liter.

Langkah selanjutnya yaitu memasukkan larutan tersebut ke dalam *beker glass*. Ditambahkan gula sebanyak 30 g dan diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* dan *hot plate*, sambil mengukur pH larutan yaitu 6,2. Setelah pH sesuai, kemudian larutan ditambahkan bahan pematat media yaitu agar-agar sebanyak 8 g. Setelah semua larutan terlarut dan larutan mendidih, maka tahap selanjutnya adalah menuangkan larutan tersebut ke botol-botol kultur, setiap botolnya kurang lebih 25 ml. Botol kemudian ditutup dengan plastik PP 0,3 mm dan kemudian disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C, pada tekanan 1,5 kg/cm<sup>3</sup>. Setelah sterilisasi selesai, botol diangkat dari *autoclave* dan ditempatkan di ruang inkubasi selama 3 hari. Apabila media telah memadat dan tidak terjadi kontaminasi, maka penanaman eksplan dapat dilakukan.

## 3. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang harus disterilkan diantaranya botol kultur, petridish, scalpel dan pinset. Alat-alat tersebut dicuci sampai bersih dengan menggunakan sabun cuci kemudian dikeringkan. Setelah kering dibungkus dengan kertas koran (kecuali botol kultur) lalu dimasukkan ke dalam autoklaf pada tekanan 1,5 Psi (kg/cm<sup>3</sup>), pada suhu 121°C selama 45 menit.

## 4. Sterilisasi Eksplan dan Penanaman

Bahan tanaman berupa stek mikro. Steck mikro diperoleh dari biji jeruk yang ditumbuhkan pada media MS tanpa ZPT. Biji dibersihkan dengan air hangat sambil dihilangkan lapisan lendirnya. Lalu dikeringanginkan selama 15-18 jam. Biji dikupas kulir luarnya. Biji yang telah dikupas direndam dalam aquades steril selama dua jam. Biji direndam dengan aquades steril dibawa ke LAFC. Di dalam LAFC, biji direndam dalam larutan clorox 20% selama lima menit. Terakhir dibilas dengan aquades steril sebanyak dua kali lalu ditiriskan pada tissue steril

kemudian ditanam dalam media MS0. Botol kemudian ditutup kembali dengan plastik PP. Setelah berusia  $\pm$  3 bulan, bibit jeruk siap dipotong untuk dijadikan eksplan. Eksplan siap ditanam dalam media perlakuan lalu ditutup dengan plastik PP. Botol-botol yang telah selesai diberi label sesuai dengan perlakuan dan tanggal penanaman.

Penanaman eksplan dilakukan di dalam LAFC yang telah dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70%, spirtus dan formalin. Kemudian eksplan dikeluarkan dari botol dengan menggunakan pinset yang telah disterilisasi basah maupun kering. Eksplan dipotong dengan scalpel. Sebelum pinset dan scalpel akan digunakan, terlebih dahulu dicelupkan ke dalam alkohol 70% dan dibakar di atas lampu bunsen.

## **5. Pemeliharaan**

Pemeliharaan dilakukan untuk meminimalisir resiko kontaminasi dengan cara menyemprotkan spirtus ke botol-botol kultur setiap dua hari sekali serta mengeluarkan botol-botol kultur yang terkontaminasi dari ruang inkubasi.

## **E. Pengamatan Peubah**

### **1. Saat Muncul Tunas**

Pengamatan munculnya tunas dilakukan setiap hari dengan menghitung lamanya waktu muncul tunas. Waktu munculnya tunas dihitung berdasarkan HST (hari setelah tanam). Tunas terbentuk ditandai dengan munculnya tonjolan pada eksplan  $\pm$  1 mm.

### **2. Jumlah Tunas**

Pengamatan jumlah tunas dilakukan tiap minggu pada tiap-tiap botol kultur dengan menghitung berapa jumlah tunas yang sudah muncul pada setiap botol. Terbentuk tunas ditandai dengan terbentuknya tonjolan pada mata tunas  $\pm$  1 mm.

### **3. Tinggi Tunas**

Tinggi tunas diamati pada 3, 6 dan 9 MST dengan mengukur dari pangkal tunas yang terbentuk hingga ujung tunas.

#### **4. Jumlah Daun**

Jumlah daun diamati dengan menghitung jumlah daun yang terbentuk tiap minggu.

#### **5. Saat Muncul Akar**

Pengamatan munculnya akar dilakukan setiap hari dengan menghitung lamanya waktu muncul akar. Waktu munculnya akar dihitung berdasarkan HST (hari setelah tanam). Akar terbentuk ditandai dengan munculnya tonjolan pada eksplan  $\pm 1$  mm.

#### **6. Jumlah Akar**

Pengamatan jumlah akar dilakukan saat tiap minggu pada tiap-tiap botol kultur dengan menghitung berapa jumlah akar yang sudah muncul pada setiap botol. Terbentuk akar ditandai dengan terbentuknya tonjolan pada pangkal  $\pm 1$  mm.

#### **7. Panjang Akar**

Panjang akar diamati pada 3, 6 dan 9 MST dengan mengukur dari pangkal akar yang terbentuk hingga ujung akar.

### **F. Analisis Data**

Data pengamatan dianalisis dengan analisis uji F taraf 5%. Jika terdapat beda nyata, maka dilanjutkan dengan uji DMRT taraf 5%. Data-data yang tidak memenuhi kaidah statistika dianalisis secara deskriptif.

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Kondisi Umum Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta. Laboratorium terdiri dari ruang persiapan, ruang inkubasi dan ruang tanam. Ruang persiapan dipergunakan untuk mempersiapkan media kultur dan bahan tanaman yang akan dipergunakan, sebagai tempat mencuci alat-alat laboratorium, dan tempat untuk menyimpan alat-alat. Ruang tanam merupakan ruang untuk melakukan pekerjaan aseptik. Kegiatan yang dilakukan di ruangan tanam adalah isolasi tanaman, sterilisasi dan penanaman eksplan dalam media yang dilakukan di dalam LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*). Ruang tanam diusahakan bebas dari debu dan hewan kecil, serta terpisah dan tersekat dengan ruangan lain. Penggunaan AC (*Air Conditioner*) sangat dianjurkan dalam ruangan ini. Ruang inkubasi berisi rak-rak kultur untuk menampung media maupun botol-botol kultur. Rak-rak kultur dilengkapi dengan lampu *flourescent* (TL) yang berfungsi sebagai sumber pencahayaan untuk tanaman dengan intensitas 1000 lux. Ruang inkubasi dilengkapi dengan AC dengan suhu dijaga konstan yaitu 20°C. Kelembaban ruang inkubasi sekitar 60-80%.

Tanaman jeruk hasil penanaman tahun 1970-an umumnya telah berbentuk pohon dengan tinggi lebih dari 2,5 meter. Hasil cangkok dari pohon induk jeruk keprok Tawangmangu umumnya masih berukuran sekitar 1-2 meter. Bibit asli dan bibit hasil bantuan dari pemerintah adalah umumnya pohon induk jeruk keprok Tawangmangu asli biasanya diperbanyak melalui cangkok oleh penduduk. Bibit jeruk keprok bantuan dari pemerintah merupakan hasil okulasi dengan batang bawah biasanya menggunakan pohon jeruk JC (*Japanese citruen*) (Nuryandani 2012).

Menurut Nuryandani (2012) pohon induk jeruk keprok yang merupakan tanaman asli induk jeruk keprok dari daerah tersebut hanya terdapat di dua desa yaitu di desa Blumbang dan Gondosuli, pohon-pohon jeruk tersebut berasal dari hasil penanaman baru pada tahun 2000-an dengan bibit pohon jeruk keprok yang

berasal dari sumbangan pemerintah (Departemen Pertanian Kabupaten Karanganyar). Kegiatan yang dilakukan sebelum proses kultur jaringan adalah pemilihan pohon induk yang akan dijadikan eksplan. Pohon induk jeruk keprok Tawangmangu (*Citrus nobilis*) yang digunakan berasal dari desa Blumbang, kecamatan Tawangmangu, kabupaten Karanganyar. Letak agronomis lokasi berada pada 7°39'LS dan 111°9'BT . Kondisi cabang pohon kurang baik karena terdapat bercak-bercak hitam dan banyak ranting yang mengering. Daun-daun banyak yang menguning. Jumlah buah cukup banyak namun ukurannya kecil-kecil, begitu pula pada bijinya. Rasa buah masam dan terdapat aroma khas. Buah yang berasa masam diduga karena kondisi pohon yang sudah tua dan kurang terawat. Hal ini karena penduduk setempat hanya memanfaatkan hasilnya untuk konsumsi sendiri sehingga tidak merasa perlu untuk mengoptimalkan perawatan dan budidaya pohon tersebut. Ukuran buah yang kecil-kecil diduga berhubungan dengan jumlah buah yang tiap pohon. Apabila jumlah buah yang dipelihara banyak maka ukuran buah akan lebih kecil dibandingkan pohon yang jumlah buahnya sedikit.

Kondisi pohon yang kurang baik merupakan salah satu kendala dalam proses perbanyakannya secara *in vitro*, terutama bila eksplan yang digunakan adalah nodus batang. Kondisi batang yang sudah rusak sangat sulit untuk digunakan sebagai eksplan karena rentan terhadap kegagalan yaitu tingkat kontaminasi lebih tinggi dan tingkat keberhasilan pertumbuhan rendah apabila dibandingkan eksplan dengan kondisi baik dan umur eksplan lebih muda. Selain itu dikhawatirkan penggunaan nodus batang dapat merusak pohon apabila dilakukan secara terus menerus. Penggunaan eksplan yang berasal dari pembibitan secara *in vitro* dipilih karena tingkat kontaminasi rendah dan tingkat keberhasilan pertumbuhan eksplan lebih baik. Pada kegiatan *trial* yang dilakukan sebelum penelitian dimulai menunjukkan semua eksplan yang berasal dari nodus batang mengalami kontaminasi berupa jamur dan bakteri. Eksplan yang berasal dari stek mikro menunjukkan keberhasilan pertumbuhan dengan berhasil menumbuhkan tunas, daun dan akar.

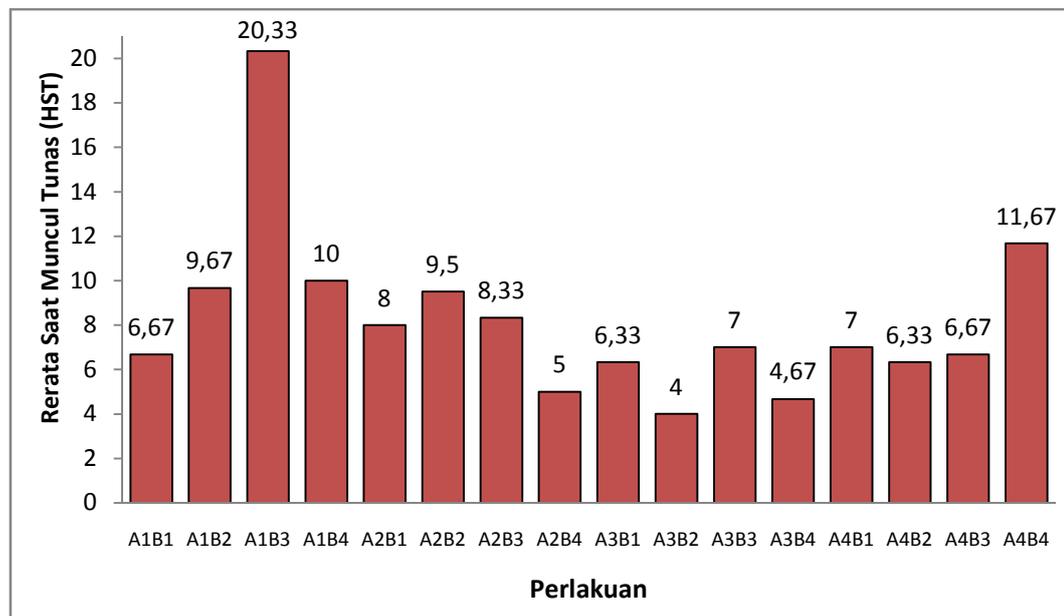
Eksplan yang digunakan adalah stek mikro. Stek mikro berasal dari biji yang ditumbuhkan secara steril pada media MS (*Murashige and Skoog*) tanpa ZPT lalu dipotong hipokotilnya untuk digunakan sebagai eksplan. Penggunaan sumber eksplan biji dipilih karena sterilisasinya yang lebih mudah daripada eksplan nodus batang dan tingkat pertumbuhannya lebih baik. Menurut Gunawan (1988) bahan tanaman yang berasal dari lapangan banyak mengandung debu, kotoran dan berbagai kontaminan hidup pada permukaannya.

Pada data-data hasil pengamatan tidak dilakukan analisis uji F maupun DMRT. Hal ini karena data-data tidak normal sehingga tidak dapat dilakukan analisis terhadap data-data tersebut. Untuk pembahasan terhadap hasil penelitian dilakukan dengan data-data rerata yang diperoleh berdasarkan hasil pengamatan tiap-tiap variabel pengamatan.

## **B. Penyajian Hasil Penelitian**

### **1. Saat Muncul Tunas**

Tunas merupakan ranting muda yang baru tumbuh atau calon tanaman baru yang tumbuh dari bagian tanaman (Rahardja dan Wiryanta 2003). Munculnya tunas merupakan tanda awal keberhasilan kultur jaringan. Kemunculan tunas ditandai dengan munculnya tonjolan berwarna hijau di ujung eksplan berukuran 1 mm (milimeter). Kombinasi IBA dan kinetin berhasil menginisiasi tunas pada semua perlakuan. Rerata saat muncul tunas tercepat dianalisis berdasarkan hasil rerata perlakuan. Hasil reratanya dapat dilihat pada Gambar 1.



Keterangan : A1 = 0 ppm; A2 = 0,5 ppm; A3 = 1 ppm; A4 = 1,5 ppm  
 B1 = 0,5 ppm; B2 = 1 ppm; B3 = 1,5 ppm; B4 = 2 ppm  
 HST (hari setelah tanam) ; ppm (part per million)

Gambar 1. Histogram pengaruh IBA dan kinetin terhadap saat muncul tunas *C. nobilis* secara *in vitro* (9 MST).

Kombinasi IBA 1 ppm dan kinetin 1 ppm menunjukkan saat muncul tunas tercepat yaitu 4 hari setelah tanam (Gambar 1.). Kombinasi yang seimbang antara IBA dan kinetin mempercepat dalam munculnya tunas dari eksplan. Gambar 1. menunjukkan saat muncul tunas terlama pada konsentrasi IBA 0 ppm dan kinetin 1,5 ppm. Penambahan sitokinin yang tanpa auksin belum mampu menginduksi munculnya tunas lebih cepat.

Konsentrasi yang seimbang antara IBA dan kinetin menghasilkan saat muncul tunas tercepat. Konsentrasi yang seimbang antara IBA dan kinetin serta zat pengatur tumbuh eksogen pada eksplan diduga mampu bersinergi dengan baik untuk kemunculan tunas. Setiawati (2007) menyatakan bahwa salah satu faktor penting yang berpengaruh terhadap keberhasilan kultur jaringan tunas adalah keseimbangan antara ZPT (auksin dan sitokinin) di dalam media. Morfogenesis eksplan tergantung kepada keseimbangan auksin dan sitokinin di dalam media dan interaksi antara zat pengatur tumbuh endogen pada tanaman dan zat pengatur tumbuh eksogen yang diserap dari media tumbuh (Wattimena 1992). Semakin cepat

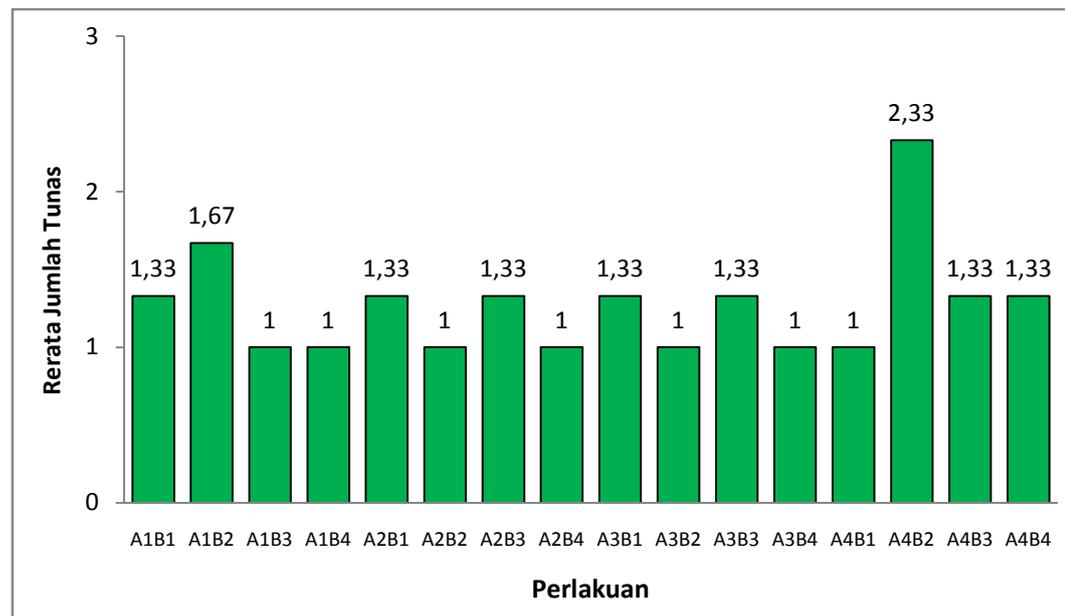
munculnya tunas diharapkan pertumbuhan tinggi tunas juga akan semakin cepat sehingga semakin banyak eksplan yang dihasilkan untuk perbanyakannya selanjutnya.

Saat muncul tunas terlama ditunjukkan pada kombinasi perlakuan dengan penambahan sitokinin tanpa auksin. Kondisi ini tidak sesuai dengan pernyataan Sitepu (2007) pertumbuhan tunas seringkali dipengaruhi oleh konsentrasi sitokinin. Hal ini diduga karena faktor luar seperti konsentrasi IBA yang tinggi tidak terlalu berpengaruh pada awal pertumbuhan eksplan. Sitepu (2007) menyatakan pembelahan awal sangat sedikit dipengaruhi oleh faktor luar eksplan itu sendiri sehingga faktor genetik lebih dominan terhadap pembentukan akar dan tunas. Untuk inisiasi tunas diduga akan lebih cepat apabila penambahan sitokinin dikombinasikan dengan auksin. Hal ini sesuai dengan saat muncul tunas tercepat dihasilkan pada penambahan IBA 1 ppm yang dikombinasikan dengan penambahan kinetin 1 ppm. Menurut Triatminingsih dan Karsinah (2004) penambahan auksin dapat memacu inisiasi eksplan sebanyak 45% dibandingkan dengan media tanpa auksin.

## **2. Jumlah Tunas**

Jumlah tunas yang terbentuk merupakan faktor penting dalam multiplikasi tunas. Semakin banyak tunas yang terbentuk, semakin banyak pula bahan tanam yang dapat dijadikan untuk eksplan pada tahap selanjutnya. Semakin banyak tunas yang dihasilkan merupakan indikasi keberhasilan multiplikasi tunas. Perhitungan jumlah tunas berdasarkan jumlah tunas yang terbentuk pada masing-masing eksplan, baik berupa tunas aksilar maupun tunas apikal. Sebuah tunas dapat dihitung sebagai tunas apabila tingginya minimal 1 mm (milimeter).

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap rerata jumlah tunas diketahui bahwa tingkat multiplikasi tunas masih rendah. Jumlah tunas yang terbanyak hanya 2,33 tunas. Hal ini ditunjukkan dengan rerata jumlah tunas seperti pada Gambar 2.



Keterangan : A1 = 0 ppm; A2 = 0,5 ppm; A3 = 1 ppm; A4 = 1,5 ppm  
 B1 = 0,5 ppm; B2 = 1 ppm; B3 = 1,5 ppm; B4 = 2 ppm  
 ppm (part per million)

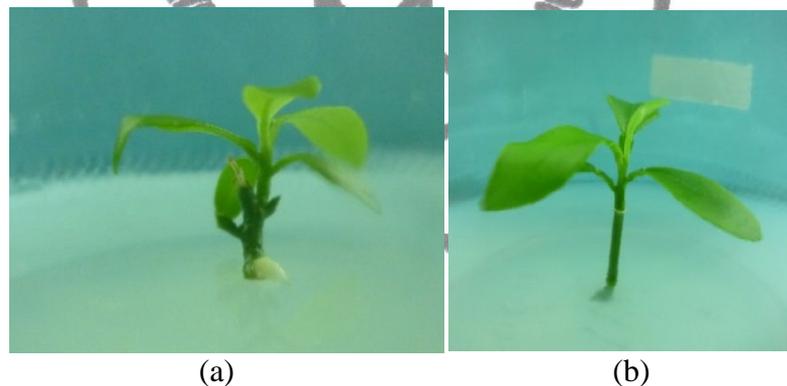
Gambar 2. Histogram pengaruh IBA dan kinetin terhadap jumlah tunas *C. nobilis* secara *in vitro* (9 MST).

Jumlah tunas terbanyak ditunjukkan pada kombinasi IBA 1,5 ppm dan kinetin 1 ppm yaitu 2,33 buah (Gambar 2.). Jumlah tunas yang muncul oleh variasi konsentrasi IBA dan kinetin tidak menunjukkan perbedaan yang jauh (Gambar 2.). Jumlah tunas terbanyak adalah 2,33 buah dan jumlah tunas terendah adalah 1 buah.

Multiplikasi tunas umumnya dipengaruhi oleh konsentrasi sitokinin. Walaupun konsentrasi kinetin lebih rendah daripada IBA, namun menghasilkan jumlah tunas terbanyak (Gambar 2.). Hal ini diduga karena adanya kandungan sitokinin endogen dalam eksplan. Sitokinin endogen membantu dalam inisiasi tunas walaupun sitokinin yang ada dalam media rendah. Peningkatan jumlah tunas diduga dipengaruhi pula oleh terbentuknya tunas aksilar. Pembentukan tunas aksilar meningkat karena menurunnya dominansi apikal (Pierik 1987). Menurut George dan Sherrington (1984) hilang atau menurunnya dominansi apikal ini disebabkan karena adanya hormon sitokinin endogen atau eksogen yang mendorong pertumbuhan tunas aksilar dengan tertekannya dominansi apikal. Kombinasi IBA 1,5 ppm dan kinetin 1 ppm yang menunjukkan hasil jumlah tunas

terbanyak (Gambar 2.) namun kombinasi ini tidak menghasilkan akar. Hal ini diduga akibat pertumbuhan eksplan lebih terkonsentrasi untuk pertumbuhan beberapa tunas daripada pembentukan akar.

Penambahan konsentrasi sitokinin dengan konsentrasi lebih tinggi tidak dapat meningkatkan jumlah tunas yang lebih banyak. Terbentuknya tunas pada eksplan tidak hanya dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh eksogen tapi juga endogen. Morfogenesis eksplan tergantung kepada keseimbangan auksin dan sitokinin di dalam media dan interaksi antara zat pengatur tumbuh endogen pada tanaman dan zat pengatur tumbuh eksogen yang diserap dari media tumbuh (Wattimena 1992). Kandungan hormon endogen pada tiap-tiap eksplan berbeda sehingga penambahan auksin eksogen ke dalam media kultur akan menimbulkan respon yang bervariasi. Hal ini berpengaruh pada jumlah tunas yang dihasilkan tiap-tiap eksplan.



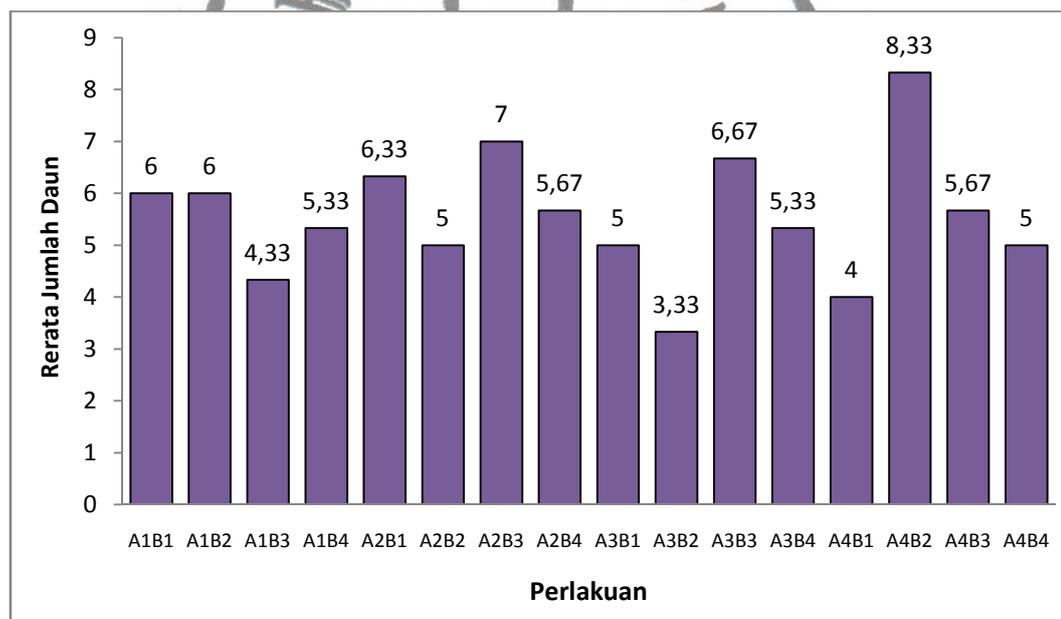
Gambar 3. Jenis tunas *C. nobilis* (a) tunas aksilar (b) tunas apikal.

Jenis tunas yang tumbuh ada dua, yaitu tunas apikal dan tunas aksilar (Gambar 3.). Tunas apikal adalah tunas yang tumbuh pada ujung (titik tumbuh utama) tanaman. Tunas aksilar adalah tunas yang berasal dari mata tunas yang berada mata tunas yang ada pada ketiak daun yang akan berkembang menjadi cabang. Setiap tunas yang dihasilkan dapat dijadikan sebagai sumber untuk penggandaan tunas selanjutnya sehingga diperoleh tunas yang banyak dalam waktu singkat (Kosmiatin et al. 2005). Meskipun demikian, namun dalam multiplikasi tunas yang lebih diharapkan adalah munculnya tunas aksilar.

Semakin banyak tunas aksilar yang terbentuk maka semakin banyak pula sumber eksplan untuk proses perbanyakan selanjutnya.

### 3. Jumlah Daun

Daun dinyatakan sebagai lembaran berwarna hijau baik yang masih menggulung maupun telah terbuka (Prihatmanti dan Mattjik 2004). Daun merupakan bagian yang penting bagi tumbuhan. Daun berperan dalam proses fotosintesis yang hasilnya sangat bermanfaat bagi perkembangan eksplan. Semakin banyak jumlah daun yang dihasilkan, diharapkan semakin memacu pertumbuhan eksplan. Pertumbuhan daun terjadi pada semua perlakuan. Analisis jumlah daun terbanyak ditunjukkan pada rerata jumlah daun. Hasil rerata jumlah daun ditunjukkan pada Gambar 4.



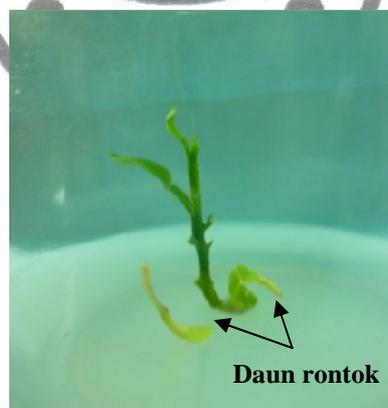
Keterangan : A1 = 0 ppm; A2 = 0,5 ppm; A3 = 1 ppm; A4 = 1,5 ppm  
 B1 = 0,5 ppm; B2 = 1 ppm; B3 = 1,5 ppm; B4 = 2 ppm  
 ppm (part per million)

Gambar 4. Histogram pengaruh IBA dan kinetin terhadap jumlah daun *C. nobilis* secara *in vitro* (9 MST).

Jumlah daun yang dihasilkan tiap-tiap perlakuan bervariasi. Gambar 4. menunjukkan kombinasi perlakuan IBA 1,5 ppm dan kinetin 1 ppm menghasilkan jumlah daun terbanyak yaitu 8,33 helai. Jumlah daun terendah ditunjukkan pada perlakuan IBA 1 ppm dan kinetin 1 ppm yaitu 3,33 helai (Gambar 4.).

Jumlah daun berhubungan searah dengan jumlah tunas. Semakin banyak tunas yang tumbuh maka semakin banyak pula jumlah daun yang terbentuk. Kombinasi IBA 1,5 ppm dan kinetin 1 ppm selain menghasilkan jumlah tunas terbanyak juga menghasilkan jumlah daun terbanyak. Konsentrasi IBA yang lebih tinggi daripada kinetin diduga berpengaruh pada peningkatan jumlah daun terutama dalam pembelahan sel. Auksin merangsang pembelahan sel (Santoso dan Nursandi 2004) bila laju pembelahan sel dan pembentukan jaringan berjalan cepat, maka akan mempercepat pertumbuhan batang dan daun (Setyati 1979).

Jumlah daun terendah yaitu 2,5 helai pada kombinasi IBA 1 ppm dan kinetin 1 ppm. Salah satu eksplan pada perlakuan tersebut tidak mengalami pertumbuhan. Tidak tumbuhnya tunas pada eksplan diakibatkan gagalnya sel dalam menjalani proses differensiasi (Suminar et al. 2007). Differensiasi sel merupakan tahapan yang penting dalam perkembangan morfogenesis tanaman. Morfogenesis eksplan tergantung kepada keseimbangan auksin dan sitokinin di dalam media dan interaksi antara zat pengatur tumbuh endogen pada tanaman dan zat pengatur tumbuh eksogen yang diserap dari media tumbuh (Wattimena 1992).



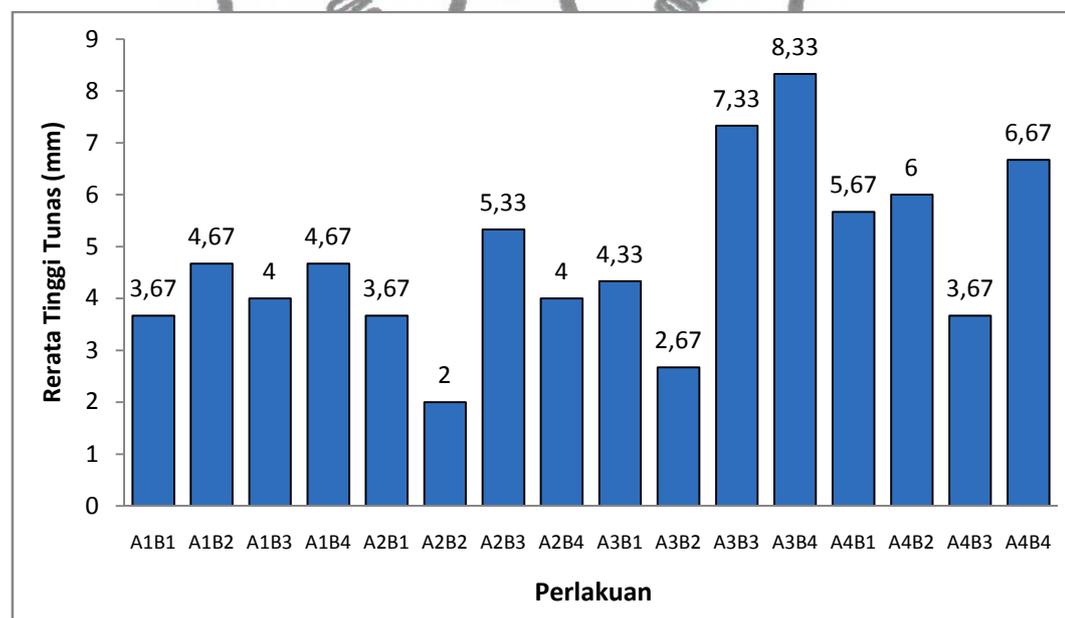
Gambar 5. Kerontokan daun *C. nobilis* pada kombinasi IBA 1,5 ppm dan kinetin 2 ppm (9 MST).

Sebelum akhir pengamatan, pada beberapa perlakuan terjadi penguningan dan penguguran daun (Gambar 5.). Gugur daun diduga berhubungan dengan gas etilen, kekurangan hara pada media, terjadinya toksisitas dan tidak seimbangnya kandungan auksin endogen di dalam jaringan tanaman. Auksin merupakan salah satu faktor kunci dalam sintesis etilen (Wattimena 1992), kandungan auksin

endogen dalam tanaman tinggi sehingga meningkatkan aktivitas etilen yang menyebabkan daun menjadi gugur (Lizawati et al. 2009). Pengaruh akumulasi etilen adalah mempercepat penuaan dan perontokan daun, untuk menekan aktivitas etilen dapat ditambahkan  $\text{AgNO}_3$  sehingga diharapkan jumlah tunas yang dihasilkan lebih banyak dan pengguguran daun dapat dihambat (Lizawati et al. 2009). Kerontokan juga dapat diakibatkan habisnya kandungan hara pada media karena telah diserap oleh plantlet tersebut. Solusinya adalah memindahkan plantlet pada media yang baru.

#### 4. Tinggi tunas

Tinggi tunas merupakan salah satu indikator terjadinya pertumbuhan pada tunas. Tinggi tunas diukur pada 3, 6 dan 9 MST. Tinggi diukur mulai dari pangkal tunas sampai titik tumbuh teratas tunas, baik berupa tunas apikal maupun tunas aksilar. Rerata tinggi tunas digunakan untuk menganalisis tinggi tunas terbaik. Rerata tinggi tunas ditunjukkan pada Gambar 6.



Keterangan : A1 = 0 ppm; A2 = 0,5 ppm; A3 = 1 ppm; A4 = 1,5 ppm  
 B1 = 0,5 ppm; B2 = 1 ppm; B3 = 1,5 ppm; B4 = 2 ppm  
 mm (milimeter) ; ppm (part per million)

Gambar 6. Histogram pengaruh IBA dan kinetin terhadap tinggi tunas *C. nobilis* secara *in vitro* (9 MST).

Gambar 6. menunjukkan kombinasi IBA 1 ppm dan kinetin 2 ppm menghasilkan tinggi tunas terbaik yaitu 8,33 mm. Konsentrasi kinetin yang tinggi berpengaruh terhadap pembelahan sel dan didukung dengan IBA 1 ppm sudah cukup berpengaruh terhadap perpanjangan sel sehingga dihasilkan tinggi tunas terbaik. Heddy (1996) mengemukakan bahwa auksin dapat merangsang perpanjangan sel yang akan berakibat terhadap perpanjangan koleoptil dan batang, sedangkan sitokinin penting dalam pengaturan pembelahan sel (Subiani 2011). Tinggi tunas terendah terdapat pada kombinasi IBA 0,5 ppm dan kinetin 1 ppm yaitu 2 mm (Gambar 6.). Tinggi tunas yang paling rendah diduga akibat rendahnya konsentrasi IBA. Kinetin berpengaruh terhadap pembelahan sel namun dengan konsentrasi IBA yang rendah tidak membantu dalam pemanjangan sel sehingga hasilnya tinggi tunas juga rendah. Selain itu, pada perlakuan tersebut salah satu eksplan tidak berhasil tumbuh. Hal ini berpengaruh pada rerata tinggi tunas yang dihasilkan.

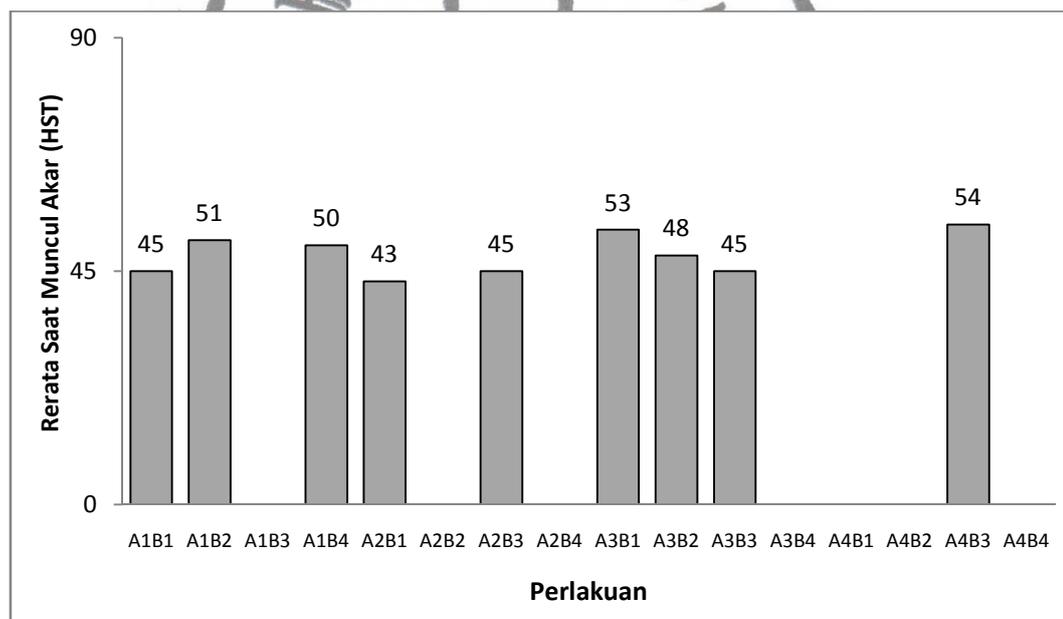
Tinggi tunas terus bertambah setiap minggunya menandakan terus terjadi pembelahan sel dan pemanjangan sel pada tunas yang terbentuk. Gambar 6. menunjukkan konsentrasi IBA 1 ppm dan kinetin 2 ppm memiliki tinggi tunas lebih tinggi dibandingkan IBA 1 ppm dan kinetin 1 ppm yang menginisiasi tunas paling cepat. Hal ini diduga karena faktor luar seperti konsentrasi IBA yang tinggi tidak terlalu berpengaruh pada awal pertumbuhan eksplan. Konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi menunjukkan pengaruhnya pada saat pertumbuhan selanjutnya yaitu peningkatan tinggi tunas. Walaupun memiliki tinggi tunas terbaik, namun IBA 1 ppm dan kinetin 2 ppm tidak menghasilkan akar. Hal ini diduga akibat konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi daripada auksin sehingga pertumbuhan eksplan lebih mengarah pada pertumbuhan tinggi tunas daripada pembentukan akar.

Kombinasi IBA 1,5 ppm dan kinetin 1 ppm yang menghasilkan jumlah tunas terbanyak justru memiliki tinggi tunas yang lebih rendah dibandingkan kombinasi IBA 1 ppm dan kinetin 2 ppm yang memiliki rerata jumlah tunas hanya satu. Pertumbuhan tinggi tunas diduga tidak searah dengan peningkatan jumlah tunas. Semakin meningkat jumlah tunas searah dengan peningkatan jumlah daun

namun menghambat dalam peningkatan tinggi tunas. Hal ini diduga pertumbuhan akan lebih terfokus untuk peningkatan jumlah tunas dan daun daripada peningkatan tinggi tunas.

## 5. Saat Muncul Akar

Akar merupakan salah satu bagian yang penting bagi tumbuhan. Akar merupakan organ vegetatif utama yang memasok air, mineral dan bahan-bahan yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Samanhudi 2010). Semakin cepat munculnya akar maka semakin cepat pula nutrisi dalam media diserap eksplan untuk pertumbuhan. Saat muncul akar tercepat dianalisis berdasarkan rerata saat muncul akar. Rerata saat muncul akar ditunjukkan pada Gambar 5.



Keterangan : A1 = 0 ppm; A2 = 0,5 ppm; A3 = 1 ppm; A4 = 1,5 ppm  
 B1 = 0,5 ppm; B2 = 1 ppm; B3 = 1,5 ppm; B4 = 2 ppm  
 HST (hari setelah tanam) ; ppm (part per million)

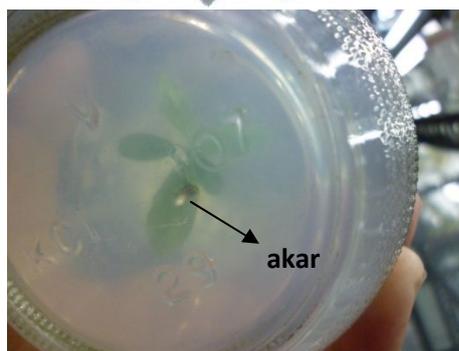
Gambar 7. Histogram pengaruh IBA dan kinetin terhadap saat muncul akar *C. nobilis* secara *in vitro* (9 MST).

Akar dinyatakan sebagai tonjolan berbentuk kerucut dan berbulu putih (bulu akar) dengan ujung berwarna kuning dan akan tumbuh memanjang (Prihatmanti dan Mattjik 2004). Munculnya akar ditandai dengan terbentuknya tonjolan berwarna putih kecoklatan pada pangkal eksplan sepanjang 1 mm.

Konsentrasi IBA 0,5 ppm dan kinetin 0,5 ppm menunjukkan saat muncul akar tercepat yaitu 43 HST sedangkan munculnya akar terlama pada kombinasi IBA 1,5 ppm dan kinetin 1,5 ppm (Gambar 7.).

Konsentrasi IBA dan kinetin yang rendah membantu dalam pembentukan akar lebih cepat. Wetherell (1982) menyatakan untuk pembentukan akar diperlukan perbandingan auksin dan sitokinin yang rendah. Hal ini didukung dengan konsentrasi kinetin yang rendah sehingga pertumbuhan eksplan tidak hanya terfokus pada pembentukan tunas dan daun. Yunus et al. (2007) menyatakan bahwa kerja auksin dapat terhambat oleh sitokinin dengan konsentrasi yang tinggi sehingga lebih terfokus untuk pertumbuhan dan perkembangan tunas dan daun.

Iniasiasi akar umumnya lebih dipengaruhi oleh konsentrasi auksin. Konsentrasi IBA yang rendah justru berhasil menumbuhkan akar lebih banyak daripada konsentrasi IBA tinggi (Gambar 7.). Hal ini diduga karena penambahan konsentrasi IBA yang tinggi justru akan menghambat munculnya akar. Penambahan auksin pada konsentrasi yang terlalu tinggi akan bersifat menghambat, bahkan mematikan atau meracuni pertumbuhan (George dan Sherrington 1984).



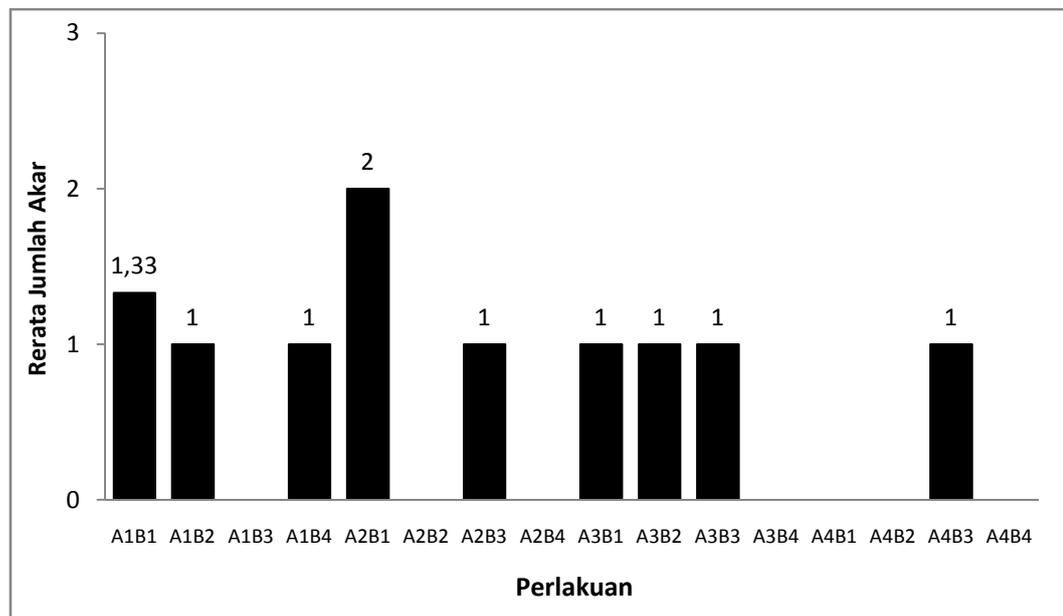
Gambar 8. Saat muncul akar *C. nobilis* pada kombinasi IBA 0 ppm dan kinetin 0,5 ppm (7 MST).

Munculnya akar tidak terjadi pada berbagai eksplan dan perlakuan. Hal ini diduga akibat kandungan zat pengatur tumbuh endogen yang berbeda pada tiap eksplan dan perbedaan respon eksplan terhadap zat pengatur tumbuh eksogen sesuai kebutuhan eksplan. Masing-masing eksplan diduga memiliki sifat genetik

berbeda karena perbanyak tanaman menggunakan biji, sehingga menyebabkan respon atau kepekaan sel yang berbeda terhadap rangsangan zat pengatur tumbuh dan mekanisme kerja zat pengatur tumbuh tidak konstan di dalam jaringan eksplan sehingga menghasilkan respon yang tidak pasti pada eksplan (Yuniastuti et al. 2010). Konsentrasi auksin yang lebih rendah daripada konsentrasi sitokinin juga dapat menghambat munculnya akar. Dilihat dari kombinasi pada penelitian ini, konsentrasi auksin lebih rendah daripada sitokinin. Hal ini karena tujuan utama adalah multiplikasi tunas kemudian inisiasi akar. Tahap inisiasi akar dapat dilakukan setelah tahap multiplikasi yaitu pada tahap pengakaran. Wetter dan Constabel (1991) menyatakan pembentukan akar dapat terjadi serentak atau dapat diinduksi sesudahnya.

#### **6. Jumlah Akar**

Zulkarnain (2009) menyatakan bahwa akar berfungsi sebagai alat untuk menyerap unsur hara dan nutrisi serta sebagai penopang tubuh tanaman. Semakin banyak jumlah akar yang terbentuk maka semakin optimal penyerapan unsur hara dari media. Secara visual, akar yang terbentuk di pangkal eksplan berwarna putih kecoklatan dan tidak bercabang. Jumlah akar terbanyak diamati berdasarkan rerata jumlah akar. Hasil rerata jumlah akar ditunjukkan pada Gambar 9.



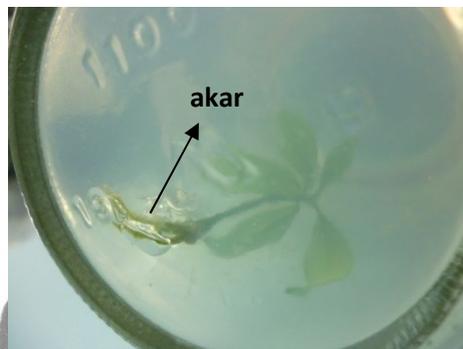
Keterangan : A1 = 0 ppm; A2 = 0,5 ppm; A3 = 1 ppm; A4 = 1,5 ppm  
 B1 = 0,5 ppm; B2 = 1 ppm; B3 = 1,5 ppm; B4 = 2 ppm  
 ppm (part per million)

Gambar 9. Histogram pengaruh IBA dan kinetin terhadap jumlah akar *C. nobilis* secara *in vitro* (9 MST).

Jumlah akar yang terbentuk hanya sedikit bahkan pada beberapa perlakuan tidak mampu menghasilkan akar. Gambar 9. menunjukkan jumlah akar terbanyak pada perlakuan kombinasi IBA 0,5 ppm dan kinetin 0,5 ppm yaitu 2 buah. Kombinasi tersebut selain menghasilkan jumlah akar terbanyak juga merupakan kombinasi yang menginisiasi akar tercepat yaitu 43 HST. Meskipun perbandingan antara IBA dan kinetin sama dan dalam konsentrasi rendah namun diduga karena adanya auksin endogen dalam eksplan menyebabkan peningkatan dalam jumlah akar. Auksin adalah zat pengatur tumbuh yang diperlukan dalam proses pembentukan akar. Salisbury dan Ross (1995) menyatakan bahwa auksin yang diberikan secara eksogen dapat mendorong pertumbuhan pada konsentrasi rendah.

IBA 0,5 ppm dan kinetin 0,5 ppm yang menghasilkan jumlah akar terbanyak hanya menghasilkan jumlah tunas 1,33 buah. Jumlah akar yang meningkat tidak memberikan pengaruh besar terhadap peningkatan jumlah tunas yang dihasilkan. hal ini diduga berhubungan dengan kandungan hormon endogen pada eksplan. George dan Sherrington (1984) menyatakan inisiasi tunas dan akar ditentukan oleh konsentrasi auksin dan sitokinin yang diberikan ke dalam media

dan interaksinya dengan auksin atau sitokinin endogen yang dikandung oleh eksplan.

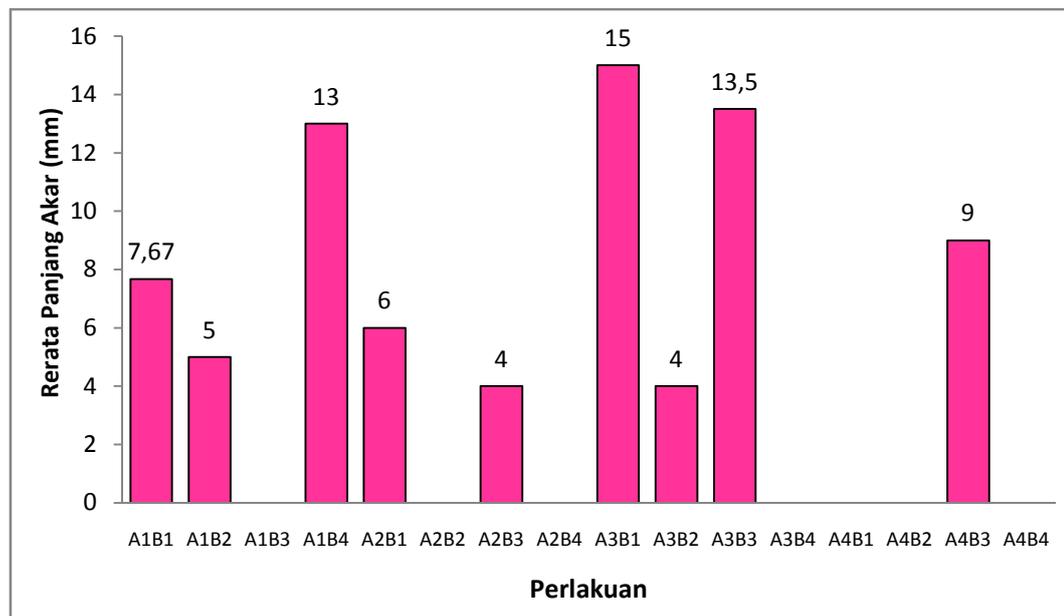


Gambar 10. Akar *C. nobilis* pada kombinasi IBA 0,5 ppm dan kinetin 0,5 ppm (9 MST).

Jumlah akar yang terbentuk rata-rata hanya satu bahkan pada beberapa perlakuan tidak terbentuk akar (Gambar 9.). Kandungan zat pengatur tumbuh endogen dan eksogen pada eksplan diduga lebih terkonsentrasi untuk pertumbuhan tunas dan daun daripada untuk pertumbuhan akar. Hidayat (2007) menyatakan bahwa morfogenesis jaringan dipengaruhi oleh interaksi dan keseimbangan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dari luar (eksogen) dan hormon tumbuh yang dihasilkan sel itu sendiri. Eksplan yang tidak muncul akar juga dapat disebabkan oleh kandungan auksin dan sitokinin yang terlalu tinggi. Sitokinin tinggi akan mencegah pertumbuhan akar dan penghantaran respon auksin dalam inisiasi akar (Desriatin 2012) dan auksin pada taraf yang melebihi konsentrasi optimum dapat bersifat racun (Avivi dan Ikrarwati 2004).

## 7. Panjang Akar

Panjang akar merupakan hasil perpanjangan sel-sel di belakang meristem ujung (Gardner et al. 1991). Semakin panjang akar maka penyerapan nutrisi menjadi lebih maksimal karena daerah jangkauan akar semakin jauh daripada akar yang pendek yang hanya mampu menyerap nutrisi di dekat perakaran. Kombinasi IBA dan kinetin menghasilkan panjang akar bervariasi namun beberapa perlakuan tidak berhasil menumbuhkan akar. Pengamatan hasil panjang akar terbaik diamati berdasarkan rerata panjang akar. Rerata panjang akar ditunjukkan pada Gambar 11.



Keterangan : A1 = 0 ppm; A2 = 0,5 ppm; A3 = 1 ppm; A4 = 1,5 ppm  
 B1 = 0,5 ppm; B2 = 1 ppm; B3 = 1,5 ppm; B4 = 2 ppm  
 mm (milimeter) ; ppm (part per million)

Gambar 11. Histogram pengaruh IBA dan kinetin terhadap jumlah akar *C. nobilis* secara *in vitro* (9 MST).

Gambar 11. menunjukkan hasil panjang akar yang bervariasi. Kombinasi IBA 1 ppm dan kinetin 0,5 ppm menghasilkan panjang akar terbaik yaitu 15 mm. Panjang akar terendah dihasilkan pada kombinasi IBA 0,5 ppm dan kinetin 1,5 ppm juga pada kombinasi IBA 1 ppm dan kinetin 1 ppm yaitu 4 mm.

Hasil panjang akar terbaik ditunjukkan pada konsentrasi IBA yang lebih tinggi daripada kinetin. Auksin dan sitokinin saling mendukung dalam pertumbuhan panjang akar terutama dalam pembelahan sel dan perpanjangan sel. Auksin berperan dalam perpanjangan sel, pembesaran jaringan dan pembentukan akar sedangkan pengaruh sitokinin merangsang pembelahan sel (George dan Sherrington 1984). Panjang akar terbaik tidak berhubungan dengan saat muncul akar tercepat. Perlakuan IBA 0,5 ppm dan kinetin 0,5 ppm yang menginisiasi akar tercepat tidak menghasilkan panjang akar terbaik. Hal ini diduga konsentrasi IBA dan kinetin yang rendah tidak mampu meningkatkan pembelahan sel dan perpanjangan sel untuk pertumbuhan selanjutnya sehingga saat muncul akar tercepat yang dihasilkan tidak berpengaruh terhadap panjang akar.

Konsentrasi kinetin yang sama dan lebih tinggi daripada IBA diduga merupakan penyebab panjang akar yang paling rendah. Pertumbuhan eksplan lebih terfokus pada pertumbuhan tunas dan daun daripada pertumbuhan akar karena konsentrasi kinetin lebih tinggi dan sama dengan IBA. Yunus et al. (2007) menyatakan bahwa kerja auksin dapat terhambat oleh sitokinin dengan konsentrasi yang tinggi sehingga lebih terfokus untuk pertumbuhan dan perkembangan tunas dan daun.

Gambar 11. menunjukkan beberapa perlakuan tidak menghasilkan akar dan peningkatan konsentrasi IBA tidak berpengaruh terhadap peningkatan panjang akar. Terbentuknya akar pada eksplan tergantung berbagai faktor seperti perbedaan kandungan hormon endogen, tingkat kematangan jaringan dan karakter fisiologis. Hidayat (2007) menyatakan bahwa morfogenesis jaringan dipengaruhi oleh interaksi dan keseimbangan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dari luar (eksogen) dan hormon tumbuh yang dihasilkan sel itu sendiri. Keseragaman ukuran dan cara pengambilan eksplan kemungkinan besar tidak diikuti dengan keseragaman hormon endogen tanaman sehingga penambahan auksin eksogen ke dalam media kultur akan menimbulkan respon yang bervariasi (Samanhudi 2010).

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Kesimpulan berdasarkan hasil penelitian adalah :

1. Tidak terjadi interaksi antara IBA dan kinetin.
2. Kombinasi IBA 1,5 ppm dan kinetin 1 ppm menghasilkan jumlah tunas terbanyak yaitu 2,33 buah dan jumlah daun terbanyak yaitu 8,33 helai.

### B. Saran

Saran berdasarkan hasil penelitian adalah :

1. Pemilihan eksplan perlu lebih selektif terutama dalam hal viabilitas eksplan yang dipilih diusahakan harus lebih seragam dalam hal ukuran dan jenisnya.
2. Eksplan yang belum berakar dapat dilakukan sub kultur ke media pengakaran dengan konsentrasi auksin yang lebih tinggi.
3. Perlu dilakukan penelitian mengenai multiplikasi tunas jeruk keprok Tawangmangu dengan menggunakan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang berbeda.