



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**RESPON TIGA GENOTIPE JERUK MANIS LOKAL (CITRUS SP)
DALAM INDUKSI KALUS DENGAN PEMBERIAN BEBERAPA
KONSENTRASI 2,4-D SECARA IN VITRO**

SKRIPSI



**KHAIRUL HUSNI
1110211018**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2015**

**RESPON TIGA GENOTIPE JERUK MANIS LOKAL (*Citrus sp*)
DALAM INDUKSI KALUS DENGAN PEMBERIAN
BEBERAPA KONSENTRASI 2,4-D SECARA *IN VITRO***

Oleh:

KHAIRUL HUSNI

1110211018

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Pertanian**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2015**

**RESPON TIGA GENOTIPE JERUK MANIS LOKAL (*Citrus sp*)
DALAM INDUKSI KALUS DENGAN PEMBERIAN
BEBERAPA KONSENTRASI 2,4-D SECARA *IN VITRO***

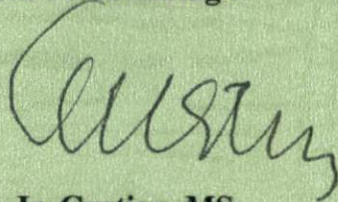
OLEH

KHAIRUL HUSNI

1110211018

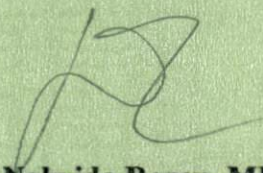
MENYETUJUI :

Dosen Pembimbing I



Dr. Ir. Gustian, MS
NIP. 196008251986031003

Dosen Pembimbing II



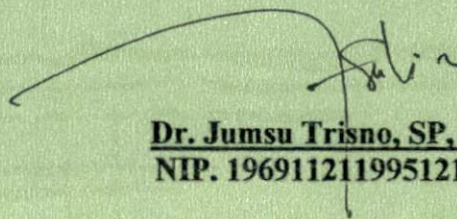
Dr. Ir. Nalwida Rozen, MP
NIP. 196504041990032001

**Dekan
Fakultas Pertanian
Universitas Andalas**



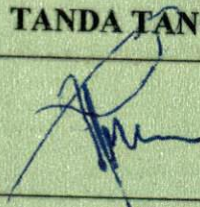
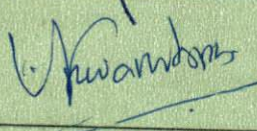
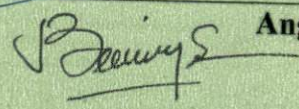
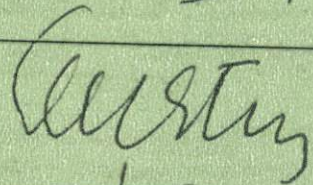
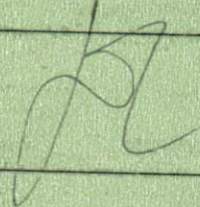
Prof. Dr. Ir. H. Ardi, MSc
NIP. 195312161980031004

**Ketua
Program Studi Agroekoteknologi
Fakultas Pertanian
Universitas Andalas**



Dr. Jumsu Trisno, SP, MSi
NIP. 196911211995121001

Skripsi ini telah diuji dan dipertahankan di depan Sidang Panitia Ujian Sarjana Fakultas Pertanian Universitas Andalas, pada tanggal 28 Juli 2015.

NO	NAMA	TANDA TANGAN	JABATAN
1.	Dr. Aprizal Zainal, SP, MSi		Ketua
2.	Nurwanita Ekasari Putri, SP, MSi		Sekretaris
3.	Dr. Ir. Benni Satria, MP		Anggota
4.	Dr. Ir. Gustian, MS		Anggota
5.	Dr. Ir. Nalwida Rozen, MP		Anggota



Ucapan Terima Kasih...

Alhamdulillah rabbil'alamiin.. Puji syukur kehadirat Allah SWT, Tuhan sekalian alam. Shalawat dan salam buat arwah baginda Rasulullah SAW. Terima kasih yang tak terhingga teruntuk kedua orang tua, ibu (Yasriwati, almh) yang telah melahirkan penulis dan juga ayah (Muslim). Selanjutnya, seluruh anggota keluarga besar Antan (H. Agus Tami) dan Biyai (Nurjati). Terutama keluarga besar Adang (Salmidar) dan Pakdang (Jusnizar Ak. Marajo), khususnya Keluarga kecil Uni (Miftahur Rahmah, SpdI) dan Uda Sumundo (Dr. Muhammad Kosim) yang telah memberikan tumpangan gratis, makan enak, tempat tidur yang nyenyak, namun yang paling berarti tentu saja sokongan dan dorongan motivasi untuk lebih dewasa dan maju. Kemudian, terima kasih kepada Bunda (Dra. Melya Rinda) dan Ayah (Ir. Isja Bewirman) atas kemurahan hati dan sokongan dana selama ini sehingga penulis telah dapat meraih gelar sarjana. Mungkin sekedar kata takkan sanggup membalas segala kebaikan ayah dan bunda. Ayah dan bunda akan selalu dihati. Selanjutnya, keluarga ibuk Aisyah (Teknisi Laboratorium Kultur Jaringan sekaligus ibu di kampus). Ibu adalah sosok seorang ibu yang teladan, selalu ada saat senang maupun susah serta memberikan dukungan ketika jiwa ini dihantam badai kegalauan. Ikatan kita seperti benang putih DNA yang tak terlihat namun akan selalu bisa kita rasakan dalam hati sanubari. Selanjutnya untuk yang paling spesial, soulmate (Fatmi Dinika cS.Si) yang selalu setia menemani dan menguatkan, you are the one and only. Semoga cepat menyusul untuk wisuda... Aamiin...

Terima kasih untuk Bapak Dr. Ir. Gustian, MS yang sudah membimbing penulis dari awal masuk ke Universitas Andalas sampai akhirnya lulus dan menyandang gelar sakral ini. Mudah-mudahan segala ilmu yang bapak berikan dijadikan sebagai amal yang takkan putus pahalanya. Terima kasih untuk Ibu Dr. Ir. Nalwida Rozen, MP yang telah memberikan banyak pelajaran dan penagalaman berharga yang akan penulis selalu ingat dalam menyongsong masa depan. Ibu yang selalu menyemangati dan mendorong penulis untuk cepat menyelesaikan studi.

Tidak lupa, terima kasih untuk seluruh rekan-rekan di Universitas Andalas, terutama mahasiswa Fakultas Pertanian, terkhusus untuk Plant Breeder 011 yang tak dapat disebutkan satu per satu. Rekan-rekan sesama peneliti di Lab. Kuljar, Teman-teman KKN Nagari Andaleh Baruah Bukik, kader SSC FP Unand, Superbuddy program Global Campus, atlet Volly Unand, teman2 sesama alumni asrama militer mahasiswa Unand (Menpera), kawan2 kontrakan (Anas and friend), serta kos Agung dan Hendra yang memberikan tumpangan ketika pulang kemalaman. Semua hari-hari yang kita lalui bersama adalah kenangan indah yang tak ternilai maknanya.

BIODATA

Penulis dilahirkan di Sungai Cubadak, Kenagarian Tabek Panjang, Kecamatan Baso, Kabupaten Agam pada tanggal 14 Februari 1993 sebagai anak kedua dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak Muslim dan Ibu Yasriwati. Penulis menempuh pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) di TK Al-Hidayah Sungai Cubadak (1998-1999), Sekolah Dasar (SD) di SDN 28 Sungai Cubadak (1999-2005), Sekolah Menengah Pertama (SMP) di MTsN IV Angkek Canduang (2005-2008), Sekolah Menengah Atas (SMA) di MAN 1 Model Bukittinggi (2008-2011). Pada tahun 2011 penulis diterima di Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) undangan. Selama menjadi mahasiswa, penulis tergabung dalam kepengurusan Social Service Center (SSC) Fakultas Pertanian sebagai staf Bidang Penagihan periode 2012-2013 dan menjabat sebagai Direktur periode 2013-2014.

Padang, Juli 2015

KH

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin. Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat beriring salam selalu tercurah buat baginda Rasulullah, Nabi Muhammad SAW sebagai suri tauladan bagi umat dalam kehidupan.

Penelitian ini berjudul, "*Respon Tiga Genotipe Jeruk Manis Lokal (Citrus sp) dalam Induksi Kalus dengan Pemberian Beberapa Konsentrasi 2,4-D Secara In Vitro*". Penelitian ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Pertanian. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang dari Bulan Februari 2015 sampai dengan Bulan April 2015.

Terimakasih yang setulusnya penulis ucapkan kepada Bapak Dr. Ir Gustian, MS sebagai dosen pembimbing I dan Ibu Dr. Ir. Nalwida Rozen, MP sebagai dosen pembimbing II yang sabar dan bijaksana telah memberi petunjuk, arahan, saran, bimbingan dan motivasi. Sesungguhnya kesempurnaan hanyalah milik Allah SWT. Oleh sebab itu, penulis menyadari akan keterbatasan yang dimiliki, dengan segala kerendahan hati penulis akan menerima segala macam kritik dan saran dari pembaca. Penulis berupaya semaksimal mungkin agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan, khususnya untuk mahasiswa Fakultas Pertanian. Kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk kesempurnaan skripsi ini.

Padang, Juli 2015

KH

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRAK	xii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tanaman Jeruk (<i>Citrus sp</i>)	4
B. Kultur Jaringan	5
C. ZPT	7
D. Kalus	8
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Waktu dan Tempat	9
B. Bahan dan Alat	9
C. Rancangan Percobaan	9
D. Pelaksanaan	10
E. Pengamatan	14
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Waktu Mulai Berkalus	16
B. Persentase Eksplan Membentuk Kalus	18
C. Tekstur Kalus	21
D. Warna Kalus	23
E. Berat Segar Kalus	25
F. Diameter Kalus	27
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	29
B. Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Waktu mulai berkalus (HST) beberapa genotipe jeruk dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D	17
2. Persentase eksplan membentuk kalus (%) beberapa genotipe jeruk dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D	19
3. Warna kalus beberapa genotipe jeruk setelah subkultur ke-4 (\pm 30 HST) dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D.....	23
4. Berat segar kalus (mg) beberapa genotipe jeruk dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D	25
5. Diameter kalus (cm) beberapa genotipe jeruk dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D	27

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Buah dari berbagai genotipe jeruk	11
2. Bagian buah jeruk	12
3. Tahapan isolasi biji jeruk	12
4. Biji genotipe jeruk Kamang	13
5. Awal terbentuknya kalus pada bekas sayatan eksplan	16
6. Tekstur kalus pada 30 HST	21
7. Warna kalus pada 30 HST	23

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Jadwal Kegiatan Percobaan Bulan Februari sampai Maret 2015	32
2. Komposisi Media Murashige dan Skoog	33
3. Denah Penempatan Botol Kultur di Laboratorium Berdasarkan RAL	34
4. Tabel Analisis Ragam Beberapa Variabel Pengamatan	35

RESPON TIGA GENOTIPE JERUK MANIS LOKAL (*Citrus sp*) DALAM INDUKSI KALUS DENGAN PEMBERIAN BEBERAPA KOSENTRASI 2,4-D SECARA *IN VITRO*

ABSTRAK

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai April 2015. Tujuannya untuk melihat interaksi antara genotipe jeruk dengan 2,4-D dalam menginduksi kalus, untuk mengetahui genotipe jeruk yang dapat menginduksi kalus dan untuk mendapatkan konsentrasi 2,4-D yang terbaik dalam induksi kalus. Penelitian ini menggunakan percobaan faktorial dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 ulangan. Faktor pertama adalah genotipe jeruk terdiri dari 3 taraf yaitu genotipe jeruk Kamang, jeruk Koto Tinggi dan jeruk Salo. Faktor kedua adalah konsentrasi 2,4-D terdiri dari 5 taraf yaitu 1,5 mg/l, 2,5 mg/l, 3,5 mg/l, 4,5 mg/l dan 5,5 mg/l. Data hasil pengamatan dianalisis secara statistik dengan uji F pada taraf nyata 5%. Apabila F hitung besar dari F tabel 5%, maka dilanjutkan dengan uji Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) pada taraf nyata 5%. Terbentuknya kalus tergantung pada konsentrasi 2,4-D dan genotipe yang digunakan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara pemberian konsentrasi 2,4-D pada berbagai genotipe jeruk yang digunakan terhadap berat segar kalus dan diameter kalus. Semua genotipe jeruk dapat menginduksi kalus, genotipe yang paling cepat dalam menginduksi kalus adalah genotipe jeruk Kamang. Konsentrasi 1,5 mg/l 2,4-D merupakan konsentrasi terbaik pada saat terbentuk kalus, dan persentase eksplan membentuk kalus.

Kata kunci: *Citrus sp*, *in vitro*, kalus, konsentrasi 2,4-D

**RESPONSE OF THREE GENOTYPES OF LOCAL CITRUS
(*Citrus sp*) IN CALLUS INDUCTION USING SEVERAL
2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID COCENTRATION
IN VITRO**

ABSTRACT

This research was carried out from February until April 2015. The objective was to examine the interaction between genotype and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid during callus induction, to determine the genotypes that can form calli and to determine the best 2,4-dichlorophenoxyacetic acid concentration for callus induction. A Complete Random Design with 3 replications was used. The first factor was the genotype (Kamang, Koto Tinggi or Salo). The second factor was 2,4-dichlorophenoxyacetic acid concentration (1.5, 2.5, 3.5, 4.5 or 5.5 mg/l). Data was analyzed statistically using the F test at the 5% level. Significant differences were analysed further with Duncan's New Multiple Range Test also at the 5% level. Callus formation depended on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid concentration and genotype. The result of this research perform the interaction between 2,4-dichlorophenoxyacetic acid concentration and genotype in callus fresh weight and diameter. Any genotype can form a callus, but the fastest callus induction was with Kamang. The fastest and highest percentage of callus formation of calli formed was obtained at a concentration of 1.5 mg/l 2,4-dichlorophenoxyacetic acid.

Keywords: *Citrus sp*, *in vitro*, a callus, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid concentration.

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Produksi tanaman jeruk di Sumatera Barat dari tahun 2009 sampai dengan tahun 2013 secara berturut-turut adalah 24.780 ton dari 200.845 pohon, 31.615 ton dari 248.823 pohon, 35.461 ton dari 302.362 pohon, 41.837 ton dari 379.953 pohon, dan 40.523 ton dari 478.345 pohon. Sejak tahun 2009 sampai dengan tahun 2012 terjadi peningkatan produksi tanaman jeruk, namun pada tahun 2013 terjadi penurunan produktivitas. Sedangkan di Kabupaten Agam produksi tanaman jeruk pada tahun 2011 adalah 5.406 ton dari 40.972 pohon. Produksi tertinggi ketiga setelah Kabupaten 50 Kota dan Kabupaten Solok. Pada tahun 2013 produksi tanaman jeruk meningkat hingga 10.512 ton dari 62.413 pohon. Produksi tanaman jeruk di Kabupaten Agam pada tahun tersebut merupakan produksi tertinggi di Sumatera Barat (Badan Pusat Statistik, 2014).

Jeruk (*Citrus sp*) merupakan salah satu komoditi buah-buahan terpenting dan termasuk buah yang digemari untuk dikonsumsi dalam bentuk segar maupun olahan. Jeruk juga merupakan komoditas buah yang menguntungkan dalam rangka meningkatkan kesejahteraan petani dan menumbuhkembangkan perekonomian regional serta peningkatan pendapatan nasional (Martasari, 2008). Oleh sebab itu, potensi jeruk manis lokal haruslah dilestarikan. Upaya-upaya untuk konservasi plasma nutfah tanaman jeruk lokal sangat penting dilakukan agar keanekaragaman hayati yang dimiliki tidak hilang begitu saja. Jeruk manis lokal Kabupaten Agam memiliki rasa yang manis dengan tekstur lembut, kulit tebal, harum, kadar air tinggi dan sedikit biji, serta memiliki potensi produktivitas tinggi karena kemampuan adaptasinya yang baik.

Salah satu kendala dalam pengembangan perkebunan jeruk umumnya adalah pengendalian hama dan penyakit terutama *Citrus Vein Phloem Degeneration* (CVPD), pemilihan varietas yang cocok untuk setiap daerah, gambaran tata niaga jeruk nasional dan gambaran kelayakan proyeknya sesuai dengan karakteristik lahan dan iklimnya (Ismail, 2009). Perbaikan kualitas tanaman jeruk dapat dilakukan secara genetik melalui pemuliaan tanaman. Tujuan pemuliaan tanaman jeruk adalah mengoptimalkan hasil pada suatu kondisi

lingkungan tertentu dalam suatu usaha budidaya pertanian dengan meminimalkan output melalui peningkatan hasil, perbaikan kualitas hasil, ketahanan terhadap kendala biotik dan abiotik, pengubahan daur hidup, modifikasi keragaman tanaman serta pengadaptasian pada suatu cara pembudidayaan (Martasari, 2008).

Perbanyakan tanaman jeruk secara *in vitro* dapat dijadikan sebagai solusi dalam rangka pengendalian hama dan penyakit terutama *Citrus Vein Phloem Degeneration* (CVPD). Perbanyakan tanaman jeruk secara *in vitro* akan menghemat waktu untuk mendapatkan tanaman jeruk yang unggul. Penelitian yang akan dilakukan diarahkan untuk mendapatkan kalus dari eksplan kotiledon. Berdasarkan penelitian Ayuni (2015) menunjukkan penggunaan eksplan kotiledon pada genotipe jeruk Kunci, jeruk Lunggo, dan jeruk Purut dapat menginduksi kalus dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D (2,5 mg/l, 5 mg/l, 7,5 mg/l dan 10 mg/l). Pemilihan kotiledon dikarenakan kotiledon merupakan jaringan yang bersifat meristem dan lebih mudah dalam sterilisasi dibandingkan jenis eksplan lain seperti pucuk, tunas muda, ujung akar, bagian batang, mahkota bunga, dan daun muda.

ZPT 2,4-D untuk tujuan induksi kalus telah banyak digunakan oleh peneliti. 2,4-D merupakan salah satu jenis auksin kuat yang mampu merangsang pembentukan kalus jika diberikan dalam jumlah yang tepat. 2,4-D lebih efektif digunakan untuk tujuan induksi kalus dibandingkan dengan jenis auksin lainnya. Menurut Purwitasari (2012) Asam-2,4-Diklorofenoksiasetat atau dikenal dengan 2,4-D merupakan auksin sintetik yang sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman. Disamping itu, auksin merupakan salah satu hormon tanaman yang dapat mendukung proses fisiologi seperti pertumbuhan, pembelahan dan diferensiasi sel serta sintesa protein. Auksin memiliki kemampuan mendorong pembelahan sel dengan cara mempengaruhi dinding sel. Selain auksin, ZPT 2,4-D memiliki kandungan N sebesar 8,9 mg.

Induksi kalus merupakan tahapan awal yang dapat ditempuh dalam rangka pemuliaan tanaman jeruk, terutama genotipe lokal yang sudah jarang dibudidayakan oleh masyarakat di Kabupaten Agam. Tiga genotipe jeruk manis lokal diambil sebagai sampel dikarenakan ketiga genotipe jeruk tersebut memiliki karakter berbuah manis, berkulit tipis dan jumlah bijinya sedikit. Setiap genotipe

jeruk memiliki konsistensi genetik berbeda sehingga apabila dilakukan induksi kalus maka akan memperlihatkan respon yang berbeda-beda. Kalus yang didapatkan dapat dijadikan sebagai bahan pelestarian plasma nutfah jeruk manis lokal tersebut untuk keperluan pemuliaan tanaman seperti mutasi, rekayasa genetika, dan hibridisasi somatik. Untuk keperluan pemuliaan tanaman diperlukan kalus yang bersifat embriogenik maupun organogenik. Apabila didapatkan kalus embriogenik, maka dalam perbanyakan massal tanaman jeruk akan lebih cepat dilakukan. Sedangkan apabila didapatkan kalus organogenik, maka perlu dilakukan regenerasi untuk merangsang pembentukan tunas maupun akar.

Penggunaan media MS dalam kultur jaringan sudah banyak digunakan untuk menginduksi kalus pada tanaman jeruk. Penggunaan media MS untuk menginduksi kalus jaringan daun, batang, dan kotiledon dari kecambah jeruk lemon (*Citrus jambhiri* L.) pada penelitian Ali dan Mirza (2006) dengan keberhasilan 16-92% dengan penambahan 2,4-D sebanyak 1,5 mg/l dengan keberhasilan mencapai 80%. Sedangkan, Nurwahyuni (2013) menyatakan bahwa media kultur yang mengandung 2,4-D dengan konsentrasi 1 mg/l tanpa BAP dapat menghasilkan kalus dalam jumlah banyak, yaitu hampir menutupi semua permukaan eksplan kultur meristem pucuk tanaman jeruk keprok Brastepu. Yulianti (2015) menyatakan bahwa media kultur mengandung 2,4-D dengan konsentrasi 2,5 mg/l dapat menghasilkan lebih banyak kalus embriogenik untuk tujuan transformasi genetik dalam perbaikan sifat jeruk Nipis, jeruk Sundai dan jeruk Kasturi.

Dengan latar belakang dan dasar pemikiran diatas penulis telah melakukan penelitian dengan judul **"Respon Tiga Genotipe Jeruk Manis Lokal (*Citrus sp*) dalam Induksi Kalus dengan Pemberian Beberapa Konsentrasi 2,4-D Secara *In Vitro*"**.

B. Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui interaksi antara genotipe jeruk dengan konsentrasi 2,4-D dalam induksi kalus.
2. Untuk mengetahui genotipe jeruk yang terbaik dalam induksi kalus.
3. Untuk mengetahui konsentrasi 2,4-D yang terbaik dalam induksi kalus.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Jeruk (*Citrus sp*)

Tanaman jeruk adalah tanaman buah tahunan yang berasal dari Asia. Cina dipercaya sebagai tempat pertama kali jeruk tumbuh. Sejak ratusan tahun yang lalu, jeruk sudah tumbuh di Indonesia baik secara alami atau dibudidayakan. Tanaman jeruk yang ada di Indonesia adalah peninggalan orang Belanda yang mendatangkan jeruk manis dan keprok dari Amerika dan Itali. Jenis jeruk lokal yang dibudidayakan di Indonesia adalah jeruk Keprok (*Citrus reticulata/nobilis* L.), jeruk Siem (*C. microcarpa* L. dan *C. sinensis* L.) yang terdiri atas Siem Pontianak, Siem Garut, Siem Lumajang, jeruk manis (*C. auranticum* L. dan *C. sinensis* L.), jeruk sitrun/lemon (*C. medica*), jeruk besar (*C. maxima* Herr.) yang terdiri atas jeruk Nambangan-Madium dan Bali. Jeruk untuk bumbu masakan yang terdiri atas jeruk nipis (*C. aurantifolia*), jeruk Purut (*C. hystrix*) dan jeruk sambal (*C. hystrix* ABC) (Prihatman, 2000).

Kriteria buah jeruk yang disukai oleh konsumen adalah rasa manis, tekstur lembut, harum, kadar jus tinggi dan jika bisa tanpa biji. Hal inilah yang membuat buah jeruk impor yang banyak dijumpai di semua tingkat pasar nasional lebih laris daripada jenis jeruk lokal, walaupun jeruk impor tersebut sering tidak lagi segar. Pada kenyataannya Indonesia memiliki banyak sekali jenis jeruk. Tiga diantaranya merupakan jeruk komersial yang sudah banyak dikenal oleh masyarakat sebagai jeruk konsumsi segar yaitu jeruk Siam, jeruk Keprok dan Pamelon (Martasari, 2008).

Terdapat 5 jenis jeruk yang diusahakan di Indonesia, diantaranya adalah jeruk besar/pamelon, jeruk nipis/purut, dan jeruk manis, jeruk siem, dan jeruk keprok. Diantara jenis tersebut, jeruk siem merupakan jenis jeruk paling banyak dibudidayakan dan kini masih mendominasi pasar nasional. Jeruk sempat menjadi primadona produk hortikultura di Indonesia sampai tahun 1993. Pada tahun 1994 kejayaan ini hancur karena persoalan hama dan tata niaga yang kurang menguntungkan petani (Pirawan, 2007).

Kelima jenis jeruk tersebut memiliki potensi produktivitas tinggi karena kemampuan adaptasinya yang baik terhadap beberapa kondisi iklim di Indonesia.

Namun kelima jenis jeruk tersebut juga memiliki kualitas yang kurang jika dibandingkan dengan jeruk impor seperti jumlah biji yang cenderung banyak, kulit yang terkadang sulit dikupas dan warna buah kurang menarik, serta tidak tahan simpan dalam waktu yang lebih dari 2 minggu. Hal ini mengakibatkan jeruk-jeruk tersebut belum menjadi komoditas primadona pada negeri sendiri. Otomatis keadaan ini akan menjadi bumerang bagi agribisnis perjerukan di Indonesia apabila upaya perbaikan varietas jeruk baik kualitas dan hasil tidak segera dilakukan (Martasari, 2008).

B. Kultur Jaringan

Pembiakan tanaman secara *in vitro* merupakan metode pengisolasian bagian tanaman (sel, jaringan, atau organ) kemudian menumbuhkannya pada media buatan dalam wadah tembus pandang dan kondisi aseptik, hingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat memperbanyak diri, tumbuh menjadi tanaman lengkap (plantlet) kembali. Pelaksanaan teknik ini memerlukan berbagai prasyarat untuk mendukung kehidupan jaringan yang dibiakkan. Hal yang paling esensial adalah wadah dan media tumbuh yang steril (Sjahril, 2011).

Teknik *in vitro* sering digunakan untuk memperbanyak bibit tanaman dikotil dan sudah lama dilakukan, terutama terhadap tanaman yang memiliki nilai ekonomi tinggi. Penggunaan teknik *in vitro* untuk memperbanyak jeruk telah dimulai oleh Bove dan Morel, sejak itu kultur jaringan tanaman jeruk banyak mendapat perhatian. Beberapa penelitian dalam kultur jaringan tanaman untuk beberapa jenis jeruk telah dilaporkan. Perbanyak tanaman jeruk secara *in vitro* melalui kultur jaringan memiliki beberapa keuntungan diantaranya menghasilkan bibit klonal secara massal dalam waktu singkat, meningkatkan kualitas tanaman yang seragam dan tingkat kesehatan bibit yang lebih baik (Nurwahyuni, 2013).

Kultur jaringan adalah istilah umum yang ditujukan pada budidaya secara *in vitro* terhadap berbagai bagian tanaman yang meliputi batang, daun, akar, bunga, kalus, sel, protoplas, dan embrio. Bagian-bagian tersebut yang diistilahkan sebagai eksplan, diisolasi dari kondisi *in vivo* dan dikultur pada medium buatan yang steril sehingga dapat beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap. Kultur jaringan merupakan mikropropagasi dalam upaya memperbanyak tanaman. Dimulai

dari pengkulturan bagian tanaman yang sangat kecil (eksplan) secara aseptik di dalam tabung kultur atau wadah lain yang serupa (Sjahril, 2011).

Embriogenesis somatik merupakan salah satu proses regenerasi tanaman dari sel somatik melalui serangkaian proses pertumbuhan dan perkembangan yang menyerupai embriogenesis zigotik melalui pentahapan proembrio, embrio tahap globular, tahap hati, tahap torpedo, tahap kotiledon, pematangan dan perkecambahan (Gray, 2005).

Salah satu kelebihan dari embriogenesis somatik adalah embrio-embrio somatik yang dihasilkan bersifat bipolar, yakni memiliki ujung-ujung akar dan pucuk yang diperlukan bagi pertumbuhan tanaman lengkap. Pada organogenesis, perkembangan pucuk dan akar sering terjadi secara terpisah dan sangat tergantung pada perubahan media. Disamping itu, kultur-kultur yang bersifat embriogenetik dapat menghasilkan embrio dalam jumlah besar dalam satu wadah kultur, lebih banyak daripada pucuk-pucuk majemuk yang diregenerasikan secara adventif melalui organogenesis. Bila kultur tersebut dipindahkan pada medium cair maka embrio-embrio tersebut dapat terpisah satu sama lain dan mengapung bebas dalam medium. Oleh karena itu, embrio-embrio tersebut tidak perlu dipisahkan secara manual, sehingga sejumlah besar embrio dapat dipindahkan dengan mudah ke dalam wadah baru yang sesuai untuk ditumbuhkan menjadi tanaman lengkap (Sjahril, 2011).

Embriogenesis somatik yang dihasilkan memiliki sifat klonal yang sama seperti induknya dan juga mempunyai sifat juvenil seperti embrio yang berasal dari biji. Perbanyakan tanaman melalui embriogenesis somatik terdiri dari beberapa tahap yaitu tahap inisiasi kalus embriogenik, perbanyakan kalus embriogenik, pendewasaan, penuaan dan perkecambahan embrio somatik (Yelnititis, 2012).

Dalam kultur *in vitro* tanaman banyak diarahkan untuk pembentukan embrio. Hal tersebut dilakukan dengan cara memindahkan sebagian kalus yang terbentuk dari hasil sub-kultur ke medium cair. Perbanyakan dalam medium cair dapat dilakukan berulang-ulang. Embrio dapat dihasilkan dari kalus yang tumbuh pada medium padat, tetapi embriogenesis lebih sering terjadi pada medium cair. Oleh karena itu, embrio yang dihasilkan pada kultur cair tersebut kemudian dapat

diisolasi dan dipindahkan ke medium padat sampai terbentuk planlet yang siap dipindahkan ke medium tanah. Proses pembentukan embrio dari sel somatik atau jaringan disebut sebagai proses embriogenesis somatik. Embriogenesis somatik umum terjadi pada famili *Ranunculaceae*, *Rutaceae*, *Solanaceae*, *Umbelliferae*, dan *Gramineae* (Sjahril, 2011).

C. ZPT

Zat pengatur tumbuh juga diperlukan dalam kultur *in vitro* untuk mendukung pertumbuhan. Kombinasi zat pengatur tumbuh yang digunakan meliputi: (1) untuk perbanyakan (proliferasi) sel digunakan 2,4 dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) atau 1-naphtalene acetic acid (NAA) dan sitokinin (kinetin, benzyl adenosine, 2-isopentyl adenine, zeatin, thidiazuron), (2) untuk regenerasi diperlukan auxin adenosine (NAA, indole acetic acid/IAA, indole butyric acid/IBA) dalam konsentrasi rendah dan sitokinin dalam konsentrasi tinggi, tetapi bukan dalam bentuk 2,4-D. Senyawa 2,4-D diketahui menginduksi perbanyakan sel tetapi menekan diferensiasi pada tanaman dikotil, tetapi 2,4-D dan 2,4,5-T (2,4,5 trichlorophenoxyacetic acid) diketahui bersifat efektif untuk menginduksi embriogenesis somatik pada tanaman sereal (monokotil) (Sjahril, 2011).

Asam-2,4-Diklorofenoksiasetat atau dikenal dengan 2,4-D merupakan auksin sintetik yang sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman serta telah digunakan dalam bidang perikanan sebagai zat perangsang tumbuh pada *Gracillaria verrucosa*. Disamping itu, auksin merupakan salah satu hormon tanaman yang dapat mendukung proses fisiologi seperti pertumbuhan, pembelahan dan diferensiasi sel serta sintesa protein. Auksin memiliki kemampuan mendorong pembelahan sel dengan cara mempengaruhi dinding sel. Selain auksin, ZPT 2,4-D memiliki kandungan N sebesar 8,9 mg (Purwitasari, 2012).

Senyawa yang biasanya digunakan untuk menginduksi pembentukan embrio adalah 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid), 2,4,5-T (2,4,5-trichlorophenoxy acetic acid) dan picloram. Beberapa tanaman dikotil dan monokotil dapat diinduksi untuk membentuk embrio dengan senyawa semacam ini. Beberapa senyawa auksin lain yang juga dapat digunakan untuk induksi embrio somatik

adalah IAA dan IBA. Sebaliknya, gibberelin dan etilen biasanya menghambat embriogenesis (Sjahril, 2011).

D. Kalus

Kultur kalus dilakukan untuk memperbanyak klon tanaman melalui pembentukan organ dan embrio, regenerasi varian-varian genetika, mendapatkan tanaman bebas virus, sebagai sumber untuk produksi protoplas, bahan awal untuk kriopreservasi, produksi metabolit sekunder, dan biotransformasi (Sjahril, 2011).

Kalus merupakan jaringan yang tumbuh dari proliferasi sel-sel yang belum terorganisasi dari suatu kelompok sel tanaman yang belum terdiferensiasi. Laju pembentukan kalus dari jaringan eksplan yang ditempatkan medium tanam sangat beragam. Sumber eksplant seringkali menentukan. Bibit yang steril juga berperan dalam menghasilkan jaringan yang paling cocok. Produksi kalus yang mempunyai struktur embriogenik dan mampu diregenerasikan merupakan faktor penting dalam kultur jaringan, khususnya dalam transformasi, induksi keragaman somaklonal dan seleksi *in vitro* (Gray, 2005).

Kalus merupakan kumpulan sel yang belum terdeferensiasi yang berasal dari sel-sel jaringan parenkim yang membelah diri secara terus menerus. Secara alami di alam, kalus umumnya terbentuk pada bekas luka akibat serangan serangga, nematoda, atau oleh *Agrobacterium tumefaciens*. Dalam pembiakan *in vitro*, kalus diperoleh dari potongan eksplan yang steril. Kalus memiliki pertumbuhan yang tidak terkendali dan memiliki potensi untuk berkembang membentuk organ (pucuk dan/atau akar dan embrioid) yang dapat membentuk planlet. Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman, tetapi organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula. Jenis tanaman yang menghasilkan kalus, meliputi dikotil berdaun lebar, monokotil, gymnospermae, pakis dan moss. Bagian tanaman seperti embrio muda, hipokotil, kotiledon dan batang muda merupakan bagian yang mudah untuk dediferensiasi dan menghasilkan kalus (Sjahril, 2011).

BAB III METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Percobaan ini telah dilaksanakan pada bulan Februari sampai April 2015 di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang. Jadwal kegiatan penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

B. Bahan dan Alat

Bahan tanaman yang digunakan sebagai sumber eksplan adalah kotiledon genotipe jeruk Kamang, genotipe jeruk Koto Tinggi, dan genotipe jeruk Salo yang diambil dari buah berukuran seperempat ukuran maksimumnya (buah yang masih muda dan diperkirakan telah memiliki biji). Untuk perlakuan digunakan nutrisi penyusun media Murashige dan Skoog (MS) (Lampiran 2), ZPT 2,4-D, *phytagel*TM dengan konsentrasi 7 g/l media, sukrosa 20 g/l media, HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N, spritus, *aquadest* steril, alkohol 70%, alkohol 96%, *Na-hipoklorit*, deterjen, *plastic wrap*, alumunium foil, plastik bening, lakban bening, karet gelang, kertas label, kertas HVS, tisu dan karton hitam.

Alat yang digunakan adalah *petridish* gunting, pinset, pisau *scalpel*, botol kultur, LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*), gelas piala, gelas ukur, labu semprot, oven, lampu bunsen, autoklaf, *hot plate magnetic stirrer*, pH meter, batang pengaduk, *handsprayer*, timbangan analitik, jangka sorong, label, alat tulis, rak kultur, ruangan yang dilengkapi pengatur suhu dan kamera digital.

C. Rancangan Percobaan

Rancangan yang dipakai adalah Faktorial dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah eksplan beberapa genotipe jeruk dengan 3 taraf, yaitu : (a1) Genotipe jeruk Kamang (a2) Genotipe jeruk Koto Tinggi (a3) Genotipe jeruk Salo. Sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi 2,4-D dengan 5 taraf, yaitu : (b1) Konsentrasi 2,4-D 1,5 mg/l media (b2) Konsentrasi 2,4-D 2,5 mg/l media (b3) Konsentrasi 2,4-D 3,5 mg/l media (b4) Konsentrasi 2,4-D 4,5 mg/l media, (b5) Konsentrasi 2,4-D 5,5 mg/l media. Dengan demikian didapatkan 15 perlakuan, setiap perlakuan diulang 3 kali,

sehingga didapatkan 45 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdapat 3 sampel botol kultur, sehingga jumlah botol kultur yang digunakan ada 135 botol. Pada masing-masing botol kultur ditanam 3 eksplan dan semua populasi diamati. Penempatan masing-masing perlakuan secara acak dan denah percobaan dapat dilihat pada (Lampiran 4). Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan uji F dan bila berbeda nyata, dilanjutkan dengan DNMRT pada taraf 5%.

D. Pelaksanaan

1. Sterilisasi Alat

Alat-alat seperti *petridish*, *scalpel*, botol kultur, pinset dan peralatan lainnya dicuci dengan deterjen dan dibilas hingga bersih, selanjutnya botol direndam dalam *Na-hipoklorit* 20% selama 24 jam kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada tekanan 15 Psi (*pound per square inch* = besarnya tekanan pada bidang seluas 1 inci) dengan suhu 121°C selama sekitar 30 menit.

Alat-alat selain botol kultur dibungkus dengan kertas HVS dan kemudian dibungkus dengan plastik bening sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf. Air pada autoklaf diganti setiap kali pemakaian. Alat-alat yang digunakan setelah sterilisasi disimpan dalam oven hingga digunakan. *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) disterilkan dengan menggunakan sinar UV selama 1 jam sebelum penanaman dan disemprot dengan alkohol 70% setiap kali akan digunakan dan setelah selesai digunakan.

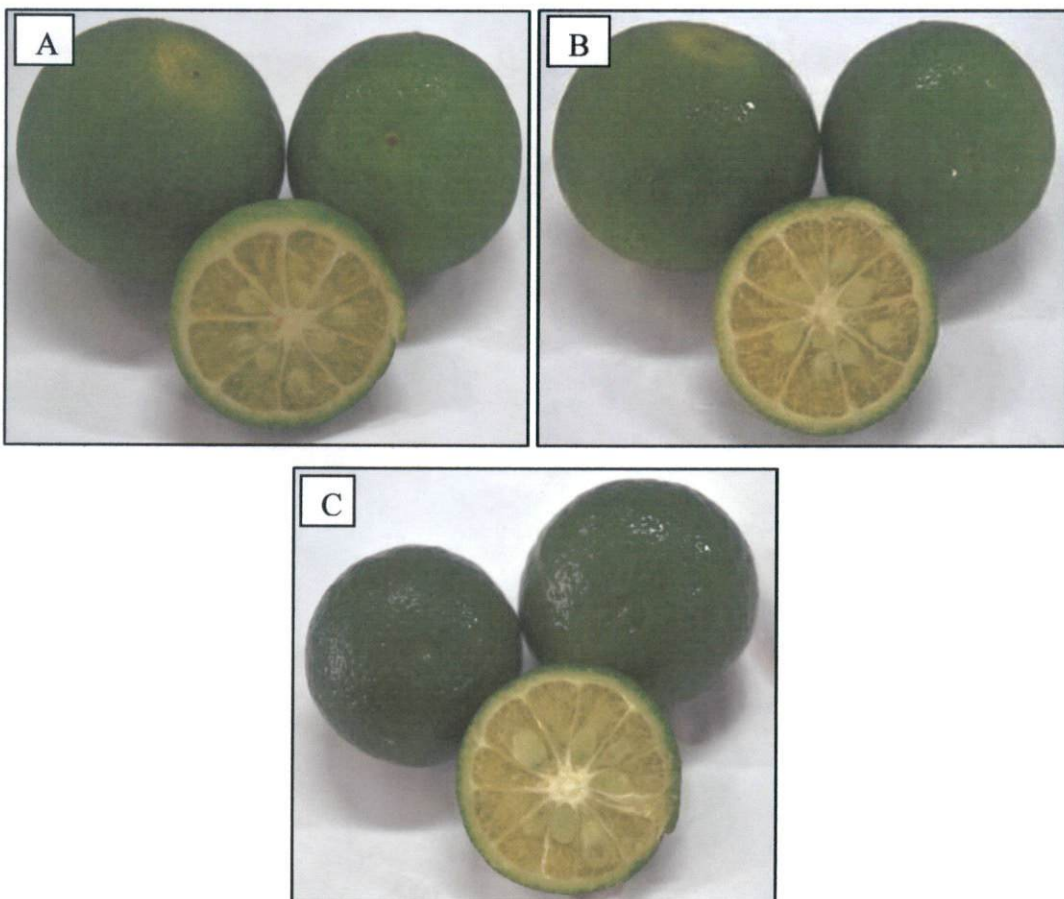
2. Pembuatan Media

Media yang digunakan adalah media MS. Total media yang dibuat untuk induksi kalus sebanyak 4 liter. Cara pembuatan media MS dengan volume 1 liter adalah dipipet larutan stok dan vitamin sesuai dengan volume larutan baku masing-masing media. Kemudian ditambahkan sukrosa 20 g/l, mio inositol 100 mg/liter dan dimasukkan ke dalam gelas piala ukuran 1 liter. Media dasar ditambahkan *phytagel*TM 7g/l sebagai bahan pematat dan 2,4-D sesuai perlakuan. Selanjutnya media dicukupkan volumenya mencapai satu liter dengan menambahkan *aquadest* dan derajat kemasaman diukur dengan pH meter, diharapkan pH 5,8. Pengaturan pH dilakukan dengan penambahan beberapa tetes

NaOH 0,1 N jika terlalu masam atau HCl 0,1 N jika terlalu basa. Kemudian media dipanaskan dan diaduk dengan menggunakan *hot plate magnetic stirrer* sampai mendidih dan dituangkan ke dalam botol kultur dengan volume 10 ml/botol. Botol kultur ditutup dengan plastik dan diikat menggunakan karet gelang lalu media di autoklaf dengan mempertahankan tekanan 15 Psi pada suhu 121⁰C selama 15 menit setelah itu diinkubasi di dalam ruang kultur. Air pada autoklaf diganti setiap kali pemakaian.

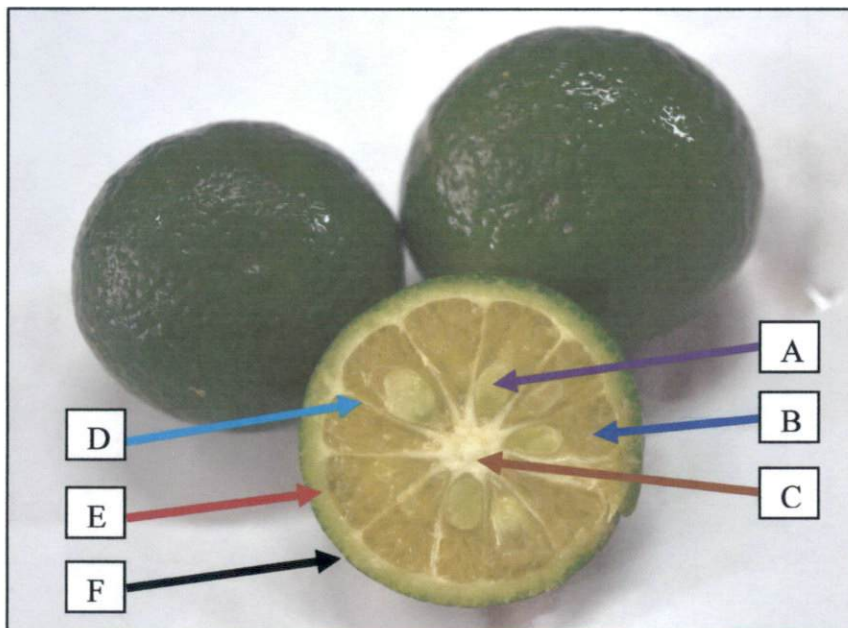
3. Persiapan Eksplan

Eksplan berupa jeruk berukuran seperempat ukuran maksimum buah genotipe jeruk Kamang, genotipe jeruk Koto Tinggi, dan genotipe jeruk Salo (Gambar 1) dibersihkan terlebih dahulu dengan air mengalir dan disikat dengan brus.



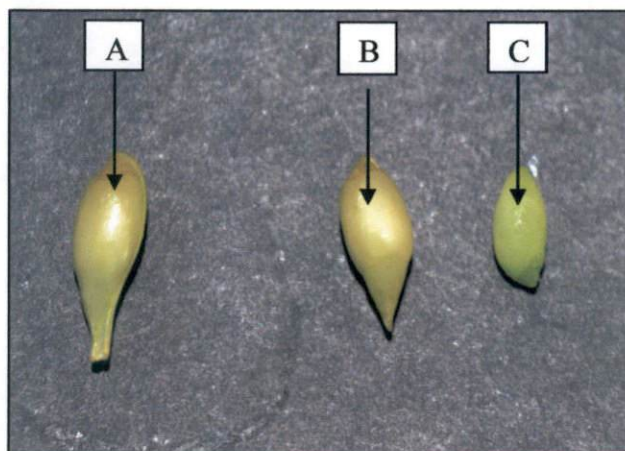
Gambar 1. Buah dari berbagai genotipe jeruk: (A) genotipe jeruk Kamang, (B) genotipe jeruk Koto Tinggi, dan (C) genotipe jeruk Salo.

Setelah berada dalam LAFC, dilakukan sterilisasi ulang dengan merendam buah jeruk tersebut kedalam *Na-hipoklorit* 20% selama 20 menit setelah itu dibilas dengan aquadest steril, kemudian buah dibelah vertikal. Setelah buah terbelah maka akan terlihat bagian-bagian dari buah jeruk (Gambar 2).



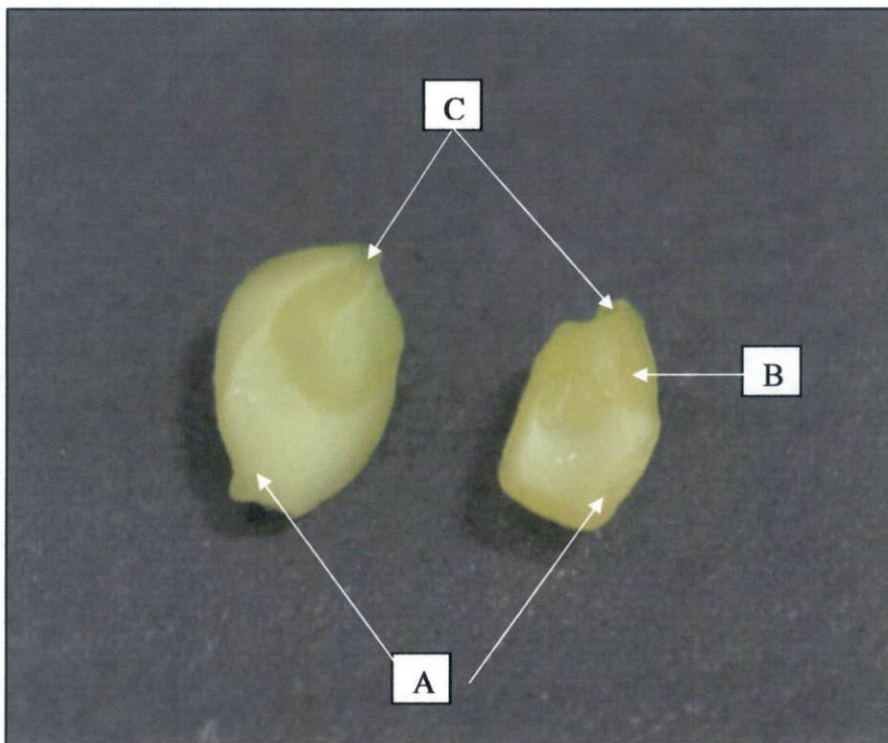
Gambar 2. Bagian buah jeruk: (A) biji, (B) juice sac, (C) plasenta, (D) albedo, (E) flavedo, (F) skin.

Biji dikeluarkan dari daging buah. Setelah biji dipisahkan dari daging buah maka akan terlihat biji utuh dengan exocarp, kemudian exocarp dibuang dan akan terlihat biji dengan endocarp, kemudian setelah endocarp dibuang maka didapatkan biji tanpa kulit. Bagian biji jeruk dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Tahapan isolasi biji jeruk: (A) biji utuh dengan exocarp, (B) biji dengan endocarp, (C) biji tanpa kulit.

Biji tersebut dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi *aquadest* steril, dilakukan sebanyak 3 kali ulangan hingga lendir yang menyelimuti biji hilang. Kotiledon diambil dengan membuka biji dan memotong pinggir atas dan bawah biji. Bagian-bagian biji jeruk akan terlihat jelas (Gambar 4). Kotiledon merupakan cadangan makanan pada biji tanaman dikotil yang merupakan bagian biji yang memiliki ukuran paling besar, ukuran kotiledon yang digunakan untuk eksplan diperkirakan 3 - 4 mm, lalu dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi larutan *aquadest* steril sebelum ditanam.



Gambar 4. Biji genotipe jeruk Kamang: (a) kotiledon, (b) embrionik axis, (c) radikula.

4. Penanaman Eksplan

Kegiatan penanaman dilakukan dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC). Botol kultur, alat tanam, bunsen dan peralatan lainnya disemprot terlebih dahulu dengan alkohol 70% sebelum dimasukkan ke dalam L AFC. Alat tanam seperti pinset dan gunting direndam dalam alkohol 96%. Kotiledon ditanam dalam botol kultur yang telah berisi masing-masing media perlakuan dan ditanam pada posisi *abaxial* dengan menanam 3 kotiledon tiap botol dengan ukuran 3 – 4 mm. Kemudian botol ditutup dengan menggunakan lakban bening dan dibalut dengan

plastic wrap. Botol-botol disusun pada rak kultur sesuai dengan denah penempatan perlakuan (Lampiran 3).

5. Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan terhadap ruang kultur dengan menjaga kebersihan dan suhu ruangan. Botol kultur yang sudah berisi media dan eksplan disemprot dengan alkohol 70%, sedangkan eksplan serta media yang terkontaminasi segera dikeluarkan dari ruangan, untuk meminimalisir penularan kontaminasi kepada botol kultur lain. Setelah kalus terbentuk setiap kalus yang terbentuk disubkultur ke media dengan konsentrasi yang sama sesuai perlakuan dengan interval subkultur 1 minggu. Tujuannya adalah agar kalus tetap segar dan tidak mengalami penurunan daya regenerasi karena berkurangnya suplai unsur hara dan ZPT di dalam media induksi.

E. Pengamatan

1. Waktu Mulai Berkalus (HST)

Pengamatan bertujuan untuk melihat hari pertama eksplan mulai membentuk kalus dari setiap kombinasi perlakuan. Pengamatan dilakukan dengan cara mengamati perkembangan eksplan yang dimulai dari penanaman sampai terbentuknya kalus. Kalus biasanya terbentuk dari perlukaan bagian kotiledon. Kalus bisa bertekstur kompak atau remah dan warna kalus dapat berwarna kekuningan, putih, hijau, atau kuning kejingga-jinggaan.

2. Persentase Eksplan Membentuk Kalus (%)

Pengamatan ini bertujuan untuk melihat kemampuan eksplan membentuk kalus. Pengamatan dilakukan mulai dari penanaman hingga hari dimana tidak ada lagi eksplan yang membentuk kalus. Pengamatan dimulai pada hari ke-7 sampai hari ke-14 hari setelah tanam, dengan perhitungan rumus :

$$\% \text{ eksplan yang membentuk kalus} = \frac{\sum \text{eksplan yang membentuk kalus}}{\sum \text{populasi tiap satuan percobaan}} \times 100$$

3. Tekstur Kalus

Tekstur kalus diamati secara visual, bagian yang diamati adalah bentuk luar dari kalus dengan cara sampel yang akan diamati dikeluarkan dari botol kultur. Pengamatan ini bersifat destruktif, sehingga sampel yang diamati tidak dapat dilanjutkan kembali. Tekstur kalus kompak atau kalus remah (*friable*) dimana kalus bertekstur kompak merupakan kalus organogenik sedangkan kalus bertekstur remah (*friable*) merupakan kalus embriogenik. Pengamatan dilakukan pada 30 HST dan hasil pengamatan didokumentasi menggunakan kamera digital dan dijelaskan secara deskriptif.

4. Warna Kalus

Pengamatan dilakukan pada 30 HST dengan cara mengamati perubahan warna pada kalus baik kalus yang berwarna putih ataupun kekuningan. Hasil pengamatan didokumentasi menggunakan kamera digital dan dijelaskan secara deskriptif. Warna kalus yang berasal dari eksplan kotiledon tanaman jeruk dapat berwarna putih dan kekuningan. Apabila kalus berwarna kekuningan menandakan bahwa kalus embriogenik. Sedangkan apabila kalus berwarna putih menandakan bahwa kalus organogenik.

5. Berat Segar Kalus

Pengamatan terhadap berat segar kalus dilakukan pada 30 HST dengan cara mengukur menimbang berat segar kalus menggunakan timbangan analitik. Data yang digunakan untuk variabel ini berasal dari 3 botol untuk setiap ulangan.

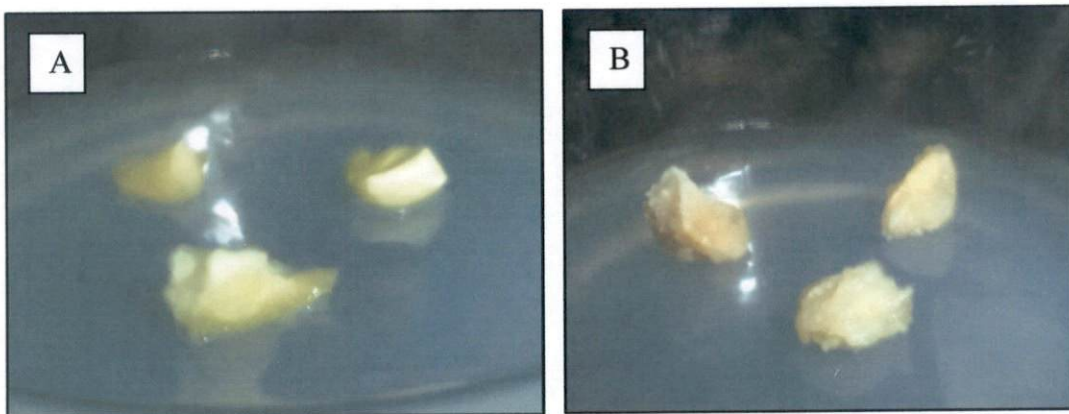
6. Diameter Kalus

Pengamatan terhadap diameter kalus dilakukan pada 30 HST dengan cara mengukur diameter kalus menggunakan jangka sorong. Data yang digunakan untuk variabel ini berasal dari 3 botol untuk setiap ulangan.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Waktu Mulai Berkalus

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kalus dapat diinduksi dengan menggunakan potongan kotiledon yang telah disterilkan dari berbagai genotipe jeruk pada media yang mengandung berbagai konsentrasi 2,4-D. Respon berbagai genotipe jeruk terhadap pemberian 2,4-D berbeda dilihat dari waktu mulai berkalus. Genotipe jeruk Kamang merupakan genotipe jeruk tercepat dalam waktu mulai berkalus, sedangkan genotipe jeruk Koto Tinggi merupakan genotipe jeruk terlama dalam waktu mulai berkalus. Terbentuknya kalus dari potongan kotiledon ditandai dengan perubahan warna eksplan menjadi hijau keputihan. Respon genotipe jeruk terhadap pemberian 2,4-D dapat dilihat pada 1 minggu setelah tanam (MST). Kalus terbentuk pertama kali dikarenakan terdapat sayatan pada eksplan yang memiliki kontak langsung dengan media. Selanjutnya terjadi pembengkakan pada eksplan dan sayatan eksplan bergelombang (Gambar 5A). Perkembangan eksplan selanjutnya ditunjukkan oleh seluruh permukaan eksplan telah tertutupi oleh sel-sel kalus (Gambar 5B).



Gambar 5. Awal terbentuknya kalus pada bekas sayatan eksplan. (A) Kalus mulai terbentuk pada media induksi kalus (7 HST). (B) Seluruh permukaan eksplan telah tertutupi oleh sel-sel kalus (30 HST).

Hasil sidik ragam (Lampiran 4a) terhadap waktu mulai berkalus menunjukkan interaksi yang berbeda tidak nyata antara genotipe jeruk dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D. Faktor tunggal genotipe jeruk dan faktor tunggal konsentrasi 2,4-D terhadap waktu mulai berkalus menunjukkan pengaruh

yang berbeda nyata dan hasil uji lanjut DNMRT pada taraf 5% dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Waktu mulai berkalus (HST) beberapa genotipe jeruk dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D

Genotipe	Konsentrasi 2,4-D (mg/l)					Rata-rata
	1,5	2,5	3,5	4,5	5,5	
	------(HST)-----					
Jeruk Kamang	6,333	7,000	7,333	8,333	9,333	7,667 a
Jeruk Koto Tinggi	7,333	8,333	7,333	8,667	9,667	8,267 b
Jeruk Salo	7,000	7,333	7,667	8,667	9,333	8,000 ab
Rata-rata	6,889 A	7,556 B	7,444 AB	8,556 B	9,444 B	

KK = 7,474%

Angka-angka yang terletak pada lajur yang sama diikuti oleh huruf kecil yang sama dan angka-angka yang terletak pada baris yang sama diikuti oleh huruf besar yang sama berbeda tidak nyata menurut uji DNMRT pada taraf 5%.

Tabel 1 menunjukkan adanya pengaruh berbeda tidak nyata antara konsentrasi 2,4-D dan genotipe jeruk terhadap waktu mulai berkalus. Konsentrasi 1,5 mg/l berbeda nyata dengan konsentrasi 2,5 mg/l, 4,5 mg/l dan 5,5 mg/l, konsentrasi 2,5 mg/l berbeda tidak nyata dengan konsentrasi 3,5 mg/l, 4,5 mg/l dan 5,5 mg/l, sedangkan konsentrasi 3,5 mg/l berbeda tidak nyata dengan konsentrasi 1,5 mg/l, 2,5 mg/l, 4,5 mg/l dan 5,5 mg/l. Genotipe jeruk Kamang berbeda nyata dengan genotipe jeruk Koto Tinggi, sedangkan genotipe jeruk Salo berbeda tidak nyata dengan genotipe jeruk Kamang dan Koto Tinggi.

Apabila dilihat pada semua genotipe jeruk yang digunakan dengan pemberian 2,4-D 5,5 mg/l memperlihatkan waktu mulai berkalus yang lebih lama, hal ini terjadi karena semakin tinggi pemberian konsentrasi 2,4-D maka kalus akan lebih lama terbentuk, kecuali pada pemberian 2,4-D 3,5 mg/l. Bahkan pemberian konsentrasi 2,4-D yang tinggi dapat menghambat terbentuknya kalus, sehingga eksplan yang ditanam cenderung menjadi putih dan tidak mengalami pertumbuhan selama pengkulturan.

Rata-rata waktu mulai berkalus tercepat adalah 6,889 HST pada konsentrasi 1,5 mg/l 2,4-D, berbeda tidak nyata dengan pemberian 2,4-D 3,5 mg/l, namun berbeda nyata dengan pemberian 2,4-D 2,5 mg/l, 4,5 mg/l, dan 5,5 mg/l. Hasil tersebut sesuai dengan pendapat Yulianti (2015) yang menyatakan bahwa pemberian 2,4-D yang beragam akan memberikan respon yang berbeda terhadap saat terbentuknya kalus. Keberadaan 2,4-D dapat memberikan pengaruh terhadap

pertumbuhan dan perkembangan eksplan terutama pada kecepatan menginduksi kalus. Hal ini juga disebabkan oleh kandungan auksin pada eksplan (hormon endogen) dalam konsentrasi rendah untuk menginduksi kalus sehingga dengan pemberian 2,4-D ke dalam media induksi akan membantu peningkatan auksin sehingga merespon aktivitas sel dalam menginduksi kalus.

Kalus terbentuk karena adanya perlukaan pada jaringan dan respon terhadap ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) yang digunakan (Yulianti, 2015). Menurut Sujatha dan Prabakaran (2001) penggunaan ZPT dari kelompok auksin seperti 2,4-D penting untuk induksi kalus. Selain itu auksin juga dapat menyebabkan sel yang telah terdiferensiasi mampu mengalami dediferensiasi. Hendaryono dan Wijayani (1994) menyatakan bahwa ZPT 2,4-D berfungsi dalam merangsang perpanjangan sel dan pembentukan kalus. Sedangkan pengaruh genotipe dalam induksi kalus tanaman jeruk telah banyak dilakukan peneliti. Husni *et al*, (2010) berhasil menginduksi kalus embriogenik dari jeruk siam Pontianak dan Simadu. Hasil penelitian ini juga menunjukkan adanya genotipe jeruk yang mampu membentuk kalus secara *in vitro*.

Pembelahan sel yang mengarah pada terbentuknya kalus terjadi dengan adanya respon terhadap luka dan suplai hormon alamiah ataupun buatan dari luar ke dalam eksplan (George dan Sherrington, 1984). Pembentukan kalus pada bekas sayatan eksplan yang digunakan memperlihatkan adanya respon genotipe terhadap konsentrasi 2,4-D yang terdapat di dalam media kultur baik berupa hormon endogen maupun ZPT eksogen. Pemberian konsentrasi yang tepat akan merangsang pembentukan kalus dan menyebabkan poliferasi sel sehingga eksplan membentuk kalus yang diperlukan untuk berbagai tujuan

B. Persentase Eksplan Membentuk Kalus

Hasil sidik ragam (Lampiran 4b) terhadap persentase eksplan membentuk kalus menunjukkan interaksi yang berbeda tidak nyata antara genotipe jeruk dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D dan begitu juga dengan faktor tunggal memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata terhadap persentase eksplan membentuk kalus. Data persentase eksplan membentuk kalus dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Persentase eksplan membentuk kalus (%) beberapa genotipe jeruk dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D

Genotipe	Konsentrasi 2,4-D (mg/l)					Rata-rata
	1,5	2,5	3,5	4,5	5,5	
	------(%)-----					
Jeruk Kamang	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
Jeruk Koto Tinggi	100,000	100,000	100,000	96,297	92,593	97,778
Jeruk Salo	100,000	100,000	100,000	100,000	96,297	99,259
Rata-rata	100,000	100,000	100,000	98,766	96,297	
KK = 4,097%						

Pada semua genotipe jeruk dengan peningkatan konsentrasi 2,4-D memperlihatkan interaksi yang berbeda tidak nyata terhadap persentase eksplan membentuk kalus begitu juga dengan faktor tunggalnya memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata terhadap persentase eksplan membentuk kalus. Tabel 2 menunjukkan bahwa hampir seluruh eksplan yang ditanam pada media induksi membentuk kalus. Persentase eksplan membentuk kalus cukup tinggi berkisar antara 92,593–100%. Dapat dilihat bahwa persentase eksplan membentuk kalus tertinggi (100%) terdapat pada genotipe jeruk Kamang, Koto Tinggi dan Salo dengan pemberian 2,4-D pada konsentrasi 1,5 mg/l, 2,5 mg/l dan 3,5 mg/l. Pada konsentrasi 4,5 mg/l 2,4-D persentase eksplan membentuk kalus pada genotipe jeruk Kamang dan Salo sebanyak 100% sedangkan jeruk Koto Tinggi hanya 96,297%. Pada konsentrasi 5,5 mg/l 2,4-D persentase eksplan membentuk kalus genotipe jeruk Kamang sebanyak 100%, genotipe jeruk Koto Tinggi sebanyak 92,593%, dan genotipe jeruk Salo sebanyak 96,297%. Semakin tinggi pemberian konsentrasi 2,4-D yang diberikan maka semakin rendah persentase eksplan membentuk kalus.

Rata-rata persentase eksplan membentuk kalus dari yang terendah ke yang tertinggi menurut genotipe yang digunakan adalah genotipe jeruk Koto Tinggi (97,778%), genotipe jeruk Salo (99,259%), dan genotipe jeruk Kamang (100%). Sedangkan rata-rata persentase eksplan membentuk kalus dari yang terendah ke yang tertinggi menurut konsentrasi 2,4-D yang diberikan adalah konsentrasi 5,5 mg/l (96,297%), konsentrasi 4,5 mg/l (98,766%), dan konsentrasi 1,5 mg/l, 2,5 mg/l, dan 3,5 mg/l (100%). Pemberian konsentrasi 2,4-D 1,5-3,5 mg/l menunjukkan pengaruh positif terhadap pembentukan kalus. Pemberian

konsentrasi 2,4-D lebih dari 3,5 mg/l menurunkan kecepatan pembentukan kalus serta persentase eksplan membentuk kalus

Pemberian konsentrasi 2,4-D memiliki hubungan yang berbanding terbalik dengan persentase eksplan membentuk kalus. Semakin tinggi pemberian konsentrasi 2,4-D maka semakin rendah persentase eksplan membentuk kalus. Berbeda halnya pada genotipe jeruk Kamang yang menunjukkan hubungan yang berbanding lurus dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D. Sesuai dengan pendapat Yulianti (2015) yang menyatakan bahwa pemberian 2,4-D terhadap berbagai genotipe jeruk menyebabkan terjadinya perimbangan antara hormon endogen dengan ZPT eksogen yang diberikan mengakibatkan proses proliferasi sel yang mengarah pada pembentukan persentase kalus yang tinggi. Tingginya kemampuan hidup eksplan yang ditanam karena jenis medium dan ZPT yang diberikan telah memenuhi kebutuhan hidup tanaman. Begitu juga menurut Gunawan (1995) yang menyatakan bahwa pertumbuhan dan morfogenesis tanaman secara *in vitro* dikendalikan oleh keseimbangan dan interaksi ZPT yang terdapat dalam eksplan, baik bersifat endogen maupun eksogen.

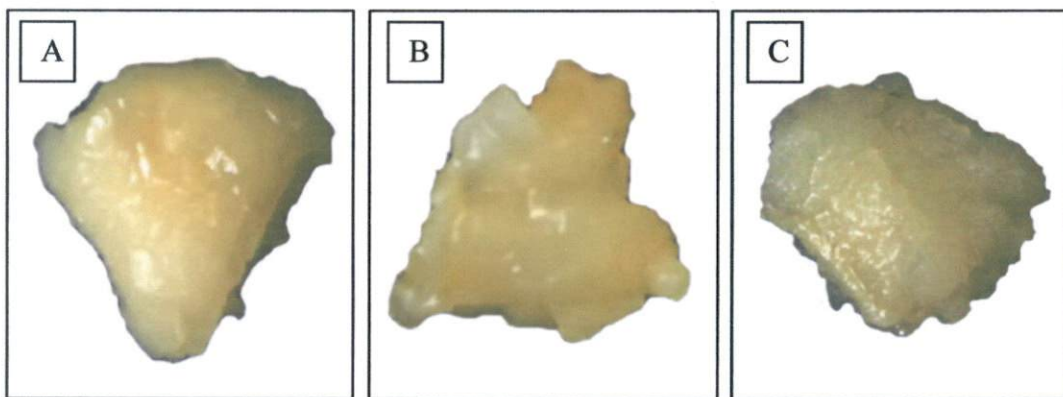
Persentase eksplan membentuk kalus menunjukkan kemampuan eksplan menyerap ZPT eksogen yang diberikan pada media induksi sehingga terjadi keseimbangan antara hormon endogen dan ZPT eksogen. Eksplan akan lebih cepat membentuk kalus dengan persentase keberhasilan yang tinggi pada pemberian ZPT yang sesuai. Pemberian ZPT eksogen memacu aktifitas hormon endogen yang terdapat dalam eksplan. Hal ini secara langsung meningkatkan kemampuan genotipe dalam merespon 2,4-D yang ditambahkan ke dalam media induksi.

Pemberian konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan persentase pembentukan kalus. Hal ini sesuai dengan pendapat Gray (2005) dalam laporannya menyebutkan bahwa pemberian 2,4-D dalam media MS yang terlalu rendah tidak akan memberikan respon yang baik terhadap induksi kalus, sedangkan pemberian 2,4-D yang terlalu tinggi bersifat toksik sehingga mengurangi kemampuan eksplan membentuk kalus. Menurut Rinanto (2011) eksplan yang berhasil membentuk kalus ditandai dengan terdapatnya massa bergerombol pada bekas sayatan kotiledon dan tanpa adanya pertumbuhan jamur.

C. Tekstur Kalus

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa kalus yang didapatkan bertekstur kompak meskipun berbeda genotipe dan konsentrasi 2,4-D yang digunakan. Hal tersebut menandakan bahwa kalus yang dihasilkan bersifat organogenik. Kalus organogenik juga dibutuhkan dalam pemuliaan tanaman jeruk, terutama untuk tujuan perakitan tanaman jeruk yang tahan terhadap CVPD.

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan dapat dilihat bahwa kalus yang dihasilkan dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D adalah kalus bertekstur kompak (Gambar 6).



Gambar 6. Tekstur kalus pada 30 HST. Kalus bertekstur kompak; (A) genotipe jeruk Kamang, (B) genotipe jeruk Koto Tinggi, (C) genotipe jeruk Salo.

Dalam penelitian ini setelah kalus terbentuk (6 - 12 HST) setiap kalus yang terbentuk disubkultur ke media dengan konsentrasi yang sama sesuai perlakuan dengan interval subkultur 1 minggu. Tujuannya adalah agar kalus tetap segar dan tidak mengalami penurunan daya regenerasi karena berkurangnya suplai unsur hara dan ZPT di dalam media induksi.

Jenis dan usia eksplan yang digunakan berpengaruh terhadap tekstur kalus yang dihasilkan. Penggunaan eksplan kotiledon akan menghasilkan kalus bertekstur kompak dengan ciri-ciri memiliki kandungan air yang rendah, rapat, dan tidak mudah pecah. Oleh sebab itu, perlu dilakukan pemindahan kalus pada media induksi ke media regenerasi dengan tujuan untuk memelihara kalus agar tetap segar. Hal ini sesuai dengan pendapat Dewi (2003) yang menyatakan bahwa kalus yang telah terbentuk harus segera dipindahkan ke media regenerasi.

Semakin lama kalus diinkubasi dalam media induksi akan menyebabkan kalus mengalami penurunan daya regenerasinya.

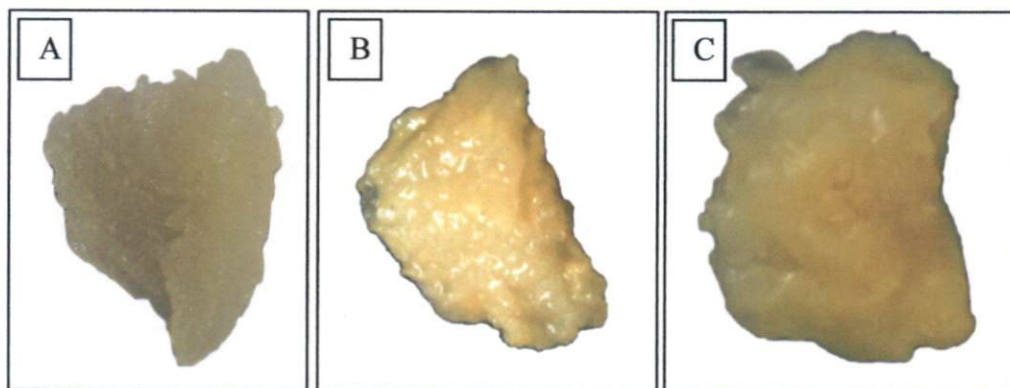
Dalam menunjang transformasi genetik, baik kalus bertekstur kompak maupun remah (*friable*) sama-sama diperlukan karena kedua jenis kalus memiliki kemampuan untuk tumbuh dan berkembang menjadi individu baru. Tekstur kompak ditandai dengan bentuk kalus yang rapat dan bersatu, ketika dipindahkan ke media regenerasi kalus juga tidak mudah pecah. Kalus remah ditandai dengan bentuk kalus yang renggang, ketika dipindahkan ke media regenerasi mudah pecah menjadi beberapa bagian (Yulianti, 2015). Menurut George dan Sherrington (1984) bahwa bentuk, tekstur, warna dan kemampuan morfogenetik serta diferensiasi kalus tergantung pada usia dan jaringan kalus yang digunakan sebagai eksplan.

Induksi kalus pada tanaman jeruk (genotipe jeruk Kamang, jeruk Koto Tinggi dan jeruk Salo) dengan menggunakan eksplan kotiledon lebih efektif dengan pemberian konsentrasi 2,4-D antara 1,5-3,5 mg/l. Kalus yang dihasilkan bertekstur kompak, namun untuk induksi kalus remah lebih efektif dengan pemberian kombinasi antara ZPT auksin dan sitokinin. Yelnititis (2012) melakukan induksi kalus dengan pemberian konsentrasi 2,4-D pada media kultur, sedangkan untuk induksi kalus remah digunakan kombinasi 2,4-D dengan Thidiazuron.

Penggunaan 2,4-D dalam konsentrasi yang lebih tinggi (3,5-5,5 mg/l) selain mengurangi diameter dan bobot segar kalus, juga menurunkan kualitas kalus yang dapat dilihat dari perubahan tekstur dan warna kalus, yaitu cenderung menjadi lebih kompak dan berwarna putih kekuningan. Kalus bertekstur kompak ditandai dengan kandungan air yang lebih rendah dibandingkan dengan kalus bertekstur remah, rapat, dan tidak mudah pecah pada saat dipegang menggunakan pinset. Menurut Rinanto (2011) Pertumbuhan kalus yang baik dicirikan dari penampakan kalus yang berwarna bening/keputihan dan mempunyai struktur yang remah. Kalus tersebut banyak mengandung air sehingga mempunyai bobot segar yang lebih tinggi. Hal tersebut mengindikasikan bahwa proliferasi kalus pada tanaman jeruk menghendaki 2,4-D dalam konsentrasi rendah tanpa pemberian sitokinin.

D. Warna Kalus

Pengamatan warna kalus dilakukan secara visual dengan mengamati warna kalus yang terbentuk umumnya berwarna putih, kuning dan putih kekuningan. Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan dapat dilihat bahwa kalus yang dihasilkan berwarna putih kekuningan. Secara umum kalus yang dihasilkan berwarna putih kekuningan (Gambar 7A dan 7B), sedangkan pada genotipe jeruk Salo dengan pemberian konsentrasi 2,4-D 4,5 mg/l dan 5,5 mg/l kalus yang dihasilkan berwarna kekuningan (Gambar 7C).



Gambar 7. Warna kalus pada 30 HST. Kalus berwarna putih kekuningan pada (A) genotipe jeruk Kamang dan (B) genotipe jeruk Koto Tinggi, kalus berwarna kekuningan pada (C) genotipe jeruk Salo.

Kalus yang didapatkan pada penelitian ini bersifat embriogenik apabila dilihat dari warnanya. Kalus embriogenik memiliki warna kekuningan. Pada semua perlakuan didapatkan kalus dengan warna putih kekuningan kecuali pada genotipe jeruk Salo dengan pemberian 2,4-D 4,5 mg/l dan 5,5 mg/l.

Tabel 3. Warna kalus beberapa genotipe jeruk (30 HST) dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D

Genotipe	Warna kalus (30 HST) pada konsentrasi 2,4-D (mg/l)				
	1,5	2,5	3,5	4,5	5,5
Jeruk Kamang	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Putih kekuningan
Jeruk Koto Tinggi	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Putih kekuningan
Jeruk Salo	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Putih kekuningan	Kekuningan	Kekuningan

Warna kalus putih kekuningan terbentuk pada genotipe jeruk Kamang dan Koto Tinggi pada semua konsentrasi 2,4-D yang diberikan sedangkan pada genotipe jeruk Salo warna kalus putih kekuningan terbentuk pada konsentrasi 1,5 mg/l, 2,5 mg/l dan 3,5 mg/l. Warna kekuningan terbentuk pada genotipe jeruk Salo dengan pemberian 2,4-D konsentrasi 4,5 mg/l dan 5,5 mg/l. Menurut Yulianti (2014), perbedaan warna kalus menunjukkan bahwa tingkat perkembangan kalus berbeda-beda. Jaringan kalus yang dihasilkan dari suatu eksplan biasanya memunculkan warna yang berbeda-beda.

Kalus berwarna putih menandakan bahwa kalus tersebut bersifat organogenik, sedangkan kalus berwarna kekuningan lebih mengarah kepada kalus embriogenik. Dalam penelitian ini dihasilkan kalus berwarna putih kekuningan (embriogenik) namun bertekstur kompak (organogenik). Begitu juga dengan kalus berwarna kekuningan, meskipun berdasarkan ciri-cirinya dapat dikategorikan kepada kalus embriogenik, namun teksturnya tetap kompak (bersifat organogenik).

Warna kalus pada waktu mulai berkalus untuk semua perlakuan adalah putih kekuningan, warna kalus tidak mengalami perubahan yang signifikan meskipun dilakukan subkultur kecuali pada genotipe jeruk Salo dengan pemberian konsentrasi 2,4-D 4,5 mg/l dan 5,5 mg/l. Yulianti (2015) menyatakan bahwa pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D memberikan pengaruh yang berbeda terhadap warna kalus. Perbedaan warna kalus menunjukkan bahwa tingkat perkembangan kalus berbeda, sehingga memunculkan warna yang berbeda. Wiedenfeld dalam Rinanto (2011) menyatakan bahwa tekstur kalus yang kompak dan terjadi perubahan warna kalus menjadi kekuningan atau kehijauan, mengindikasikan terjadinya diferensiasi sel.

Warna, tekstur dan bentuk kalus dipengaruhi oleh sumber eksplan yang digunakan. Selain sumber eksplan, komposisi medium, ZPT dan kondisi lingkungan juga mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan kalus (Yulianti, 2015). Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) sel-sel muda yang sehat akan menunjukkan warna kuning bening namun akan berubah menjadi kecoklatan seiring dengan pertumbuhan kalus yang akan semakin tua. Sedangkan menurut Gunawan (1995) kalus yang berwarna kekuningan cenderung bersifat

embriogenik sedangkan warna kalus kecoklatan, kehijauan atau putih cenderung tidak bersifat embriogenik. Morfogenesis kalus melibatkan suatu hubungan yang kompleks antara eksplan, komposisi media dan kondisi lingkungan.

E. Berat Segar Kalus

Hasil sidik ragam (Lampiran 4c) terhadap berat segar kalus menunjukkan interaksi yang berbeda nyata antara genotipe jeruk dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D dan begitu juga dengan faktor tunggal genotipe jeruk dan faktor tunggal konsentrasi 2,4-D terhadap berat segar kalus menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata dan hasil uji lanjut DNMRT pada taraf 5% dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Berat segar kalus (mg) beberapa genotipe jeruk dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D

Genotipe	Konsentrasi 2,4-D (mg/l)				
	1,5	2,5	3,5	4,5	5,5
	------(mg)-----				
Jeruk Kamang	120,500 b C	111,533 a B	115,583 b B	115,067 c B	106,633 c A
Jeruk Koto Tinggi	117,633 b B	121,133 ab B	114,500 b B	114,433 b B	90,867 b A
Jeruk Salo	84,033 a B	157,087 b C	86,267 a B	82,033 a B	77,600 a A

KK = 5,730%

Angka-angka yang terletak pada lajur yang sama diikuti oleh huruf kecil yang sama dan angka-angka yang terletak pada baris yang sama diikuti oleh huruf besar yang sama berbeda tidak nyata menurut uji DNMRT pada taraf 5%.

Tabel 4 menunjukkan bahwa pada semua genotipe jeruk dengan peningkatan konsentrasi 2,4-D akan mengakibatkan pembentukan kalus dengan berat segar lebih rendah. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D maka semakin rendah bobot segar kalus yang dihasilkan kecuali pada genotipe jeruk Kamang dengan pemberian 2,4-D 2,5 mg/l, genotipe jeruk Koto Tinggi dengan pemberian 2,4-D 1,5 mg/l dan genotipe jeruk Salo dengan pemberian 2,4-D 2,5 mg/l. Berat segar kalus terbaik untuk semua perlakuan adalah pada genotipe jeruk Salo dengan pemberian 2,4-D 2,5 mg/l (157,087 mg).

Berat segar kalus terbaik pada genotipe jeruk Kamang adalah 120,500 mg, berat segar kalus terbaik pada genotipe jeruk Koto Tinggi adalah 121,133 mg, dan berat segar kalus terbaik pada genotipe jeruk Salo adalah 157,087 mg. Berat segar

kalus terbaik dengan pemberian 2,4-D 1,5 mg/l adalah 120,500 mg, berat segar kalus terbaik dengan pemberian 2,4-D 2,5 mg/l adalah 157,087 mg, berat segar kalus terbaik dengan pemberian 2,4-D 3,5 mg/l adalah 115,583 mg, berat segar kalus terbaik dengan pemberian 2,4-D 4,5 mg/l adalah 115,067 mg, dan berat segar kalus terbaik dengan pemberian 2,4-D 5,5 mg/l adalah 106,6330 mg.

Pada genotipe jeruk Kamang berat segar kalus terberat pada pemberian konsentrasi 2,4-D 1,5 mg/l. Penambahan konsentrasi 2,4-D menurunkan kemampuan genotipe jeruk Kamang dalam menghasilkan berat segar kalus. Pada genotipe jeruk Koto Tinggi berat segar kalus terberat pada pemberian konsentrasi 2,4-D 2,5 mg/l. Penambahan konsentrasi 2,4-D menurunkan kemampuan genotipe jeruk Kamang dalam menghasilkan berat segar kalus namun menurun apabila konsentrasi dinaikkan sampai 5,5 mg/l. Pada genotipe jeruk Salo berat segar kalus terberat pada pemberian konsentrasi 2,4-D 2,5 mg/l. Penambahan konsentrasi 2,4-D 1,5 mg/l dan 2,5 mg/l menaikkan kemampuan genotipe jeruk Salo dalam menghasilkan berat segar kalus, namun pemberian konsentrasi 2,4-D diatas 3,5 mg/l menurunkan kemampuan genotipe jeruk Salo terhadap berat segar kalus.

Pemberian 2,4-D dalam media kultur menyebabkan kandungan ZPT di dalam eksplan meningkat. Peningkatan tersebut menyebabkan jaringan mengalami stres sehingga terjadi pembelahan sel secara terus-menerus di dalam jaringan dan akhirnya menyebabkan ukuran kalus bertambah besar (Yelnitis, 2012). Setiawan (2001) menyatakan bahwa berat segar kalus menggambarkan biomassa jaringan yaitu hasil sintesis dan kandungan air dalam jaringan, sehingga dapat juga dilihat peran auksin yang mampu untuk mendorong perbesaran dan perpanjangan sel, dimana semakin besar dan panjang sel, maka bobot basah yang akan dihasilkan semakin meningkat.

F. Diameter Kalus

Hasil sidik ragam (Lampiran 4d) terhadap diameter kalus menunjukkan interaksi yang berbeda nyata antara genotipe jeruk dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D dan begitu juga dengan faktor tunggal genotipe jeruk dan konsentrasi 2,4-D terhadap berat segar kalus menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata dan hasil uji lanjut DNMRT pada taraf 5% dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Diameter kalus (cm) beberapa genotipe jeruk dengan pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D

Genotipe	Konsentrasi 2,4-D (mg/l)				
	1,5	2,5	3,5	4,5	5,5
	------(cm)-----				
Jeruk Kamang	0,925 b C	0,855 b BC	0,968 c D	0,842 b B	0,810 b A
Jeruk Koto Tinggi	0,772 a C	0,775 a C	0,768 a C	0,728 a B	0,677 a A
Jeruk Salo	0,954 c B	0,932 c A	0,923 b A	0,923 c A	0,917 c A

KK = 1,441%

Angka-angka yang terletak pada lajur yang sama diikuti oleh huruf kecil yang sama dan angka-angka yang terletak pada baris yang sama diikuti oleh huruf besar yang sama berbeda tidak nyata menurut uji DNMRT pada taraf 5%.

Tabel 5 menunjukkan bahwa pada semua genotipe jeruk dengan peningkatan konsentrasi 2,4-D akan mengakibatkan pembentukan kalus dengan diameter yang lebih rendah. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D maka semakin rendah diameter kalus yang dihasilkan kecuali pada genotipe jeruk Kamang dengan pemberian 2,4-D 3,5 mg/l. Diameter kalus terbaik untuk semua perlakuan adalah pada genotipe jeruk Kamang dengan pemberian 2,4-D 3,5 mg/l (0,968 cm).

Diameter kalus terbaik pada genotipe jeruk Kamang adalah 0,968 cm, diameter kalus terbaik pada genotipe jeruk Koto Tinggi adalah 0,768 cm, dan diameter kalus terbaik pada genotipe jeruk Salo adalah 0,954 cm. Diameter kalus terbaik dengan pemberian 2,4-D 1,5 mg/l adalah 0,954 cm, diameter kalus terbaik dengan pemberian 2,4-D 2,5 mg/l adalah 0,932 cm, diameter kalus terbaik dengan pemberian 2,4-D 3,5 mg/l adalah 0,938 cm, diameter kalus terbaik dengan pemberian 2,4-D 4,5 mg/l adalah 0,923 cm, dan diameter kalus terbaik dengan pemberian 2,4-D 5,5 mg/l adalah 0,917 cm.

Pada genotipe jeruk Kamang diameter kalus terbaik pada pemberian konsentrasi 2,4-D 3,5 mg/l. Penambahan konsentrasi 2,4-D menurunkan kemampuan genotipe jeruk Kamang terhadap diameter kalus, namun mengalami kenaikan pada pemberian konsentrasi 2,4-D 3,5 mg/l. Pada genotipe jeruk Koto Tinggi diameter kalus terbaik pada pemberian konsentrasi 2,4-D 2,5 mg/l. Penambahan konsentrasi 2,4-D menurunkan kemampuan genotipe jeruk Kamang terhadap diameter kalus namun mengalami kenaikan pada pemberian konsentrasi 2,4-D 2,5 mg/l. Pada genotipe jeruk Salo diameter kalus terbaik pada pemberian

konsentrasi 2,4-D 1,5 mg/l. Penambahan konsentrasi 2,4-D menurunkan kemampuan genotipe jeruk Salo terhadap diameter kalus.

Pemberian ZPT 2,4-D dalam media kultur akan meningkatkan kemampuan sel dalam merespon induksi kalus sehingga menambah ukuran diameter kalus apabila diberikan dalam konsentrasi yang tepat dan seimbang dengan ketersediaan hormon endogen. Ukuran diameter kalus pada saat subkultur tidak mengalami peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan saat induksi. Hal ini sesuai dengan pendapat Hendaryono dan Wijayani (1994) yang menyatakan bahwa pemberian hormon eksogen akan menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesis protein dan permeabilitas sel terhadap air, serta melunakkan dinding sel yang diikuti dengan menurunnya tekanan dinding sel sehingga air dapat masuk ke dalam sel dan sel akan memperbesar dan memanjang. Perbesaran dan pemanjangan sel berkaitan erat dengan pemberian ukuran sel (diameter). Menurut Rinanto (2011) Kalus yang terbentuk tersebut pertumbuhannya menyebar ke berbagai permukaan dan menutupi bagian permukaan eksplan, dan akhirnya membentuk gumpalan sel-sel yang terdediferensiasi.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil percobaan yang telah dilaksanakan pada Respon Tiga Genotipe Jeruk Manis Lokal (*Citrus sp*) dalam Induksi Kalus dengan Pemberian Beberapa Konsentrasi 2,4-D Secara *In Vitro* disimpulkan bahwa:

1. Pemberian konsentrasi 2,4-D pada berbagai genotipe jeruk yang digunakan menunjukkan adanya interaksi terhadap berat segar dan diameter kalus.
2. Semua genotipe jeruk yang digunakan dapat menginduksi kalus, genotipe yang paling cepat dalam menginduksi kalus adalah genotipe jeruk Kamang.
3. Konsentrasi 1,5 mg/l 2,4-D merupakan konsentrasi terbaik pada waktu mulai berkalus dan persentase eksplan membentuk kalus.

B. Saran

Pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D dengan konsentrasi 1,5 mg/l pada media MS dapat menginduksi terbentuknya kalus pada kultur genotipe jeruk Kamang, Koto Tinggi dan Salo, tetapi kalus yang didapatkan belum memenuhi kriteria kalus yang embriogenik dilihat dari tekstur dan warna kalus. Jadi diharapkan penelitian ini dapat menjadi acuan untuk penelitian yang lain dalam mencari konsentrasi zat pengatur tumbuh yang tepat untuk menginduksi kalus yang embriogenik pada berbagai genotipe jeruk sehingga hal tersebut dapat bermanfaat dalam merakit tanaman jeruk unggul.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, S. and B. Mirza. 2006. *Micropropagation of Rough Lemon (Citrus jambhiri L.): Effect of Explant Type and Hormone Concentration*. Acta Bot. Croat. 65 (2) : 137 – 146.
- Ayuni, S. 2015. Induksi Kalus Pada Tiga Genotipe Jeruk (*Citrus sp*) Dengan Menggunakan 2,4-D Secara *In Vitro*. [Skripsi]. Padang: Fakultas Pertanian Universitas Andalas. 43 hal.
- Badan Pusat Statistik. 2014. Sumatera Barat Dalam Angka 2014. Padang: Badan Pusat Statistik. 234 hal.
- Dewi, I. S. 2003. Peranan Fisiologis Poliamin dalam Regenerasi Tanaman pada Kultur Antera Padi (*Oryza sativa L.*). [Disertasi]. Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. 147 hal.
- George, E. F. and P. D, Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Handbook and Directory of Comercial Laboratory. Exegetics Ltd. England. 709 p.
- Gray, D. J. 2005. *Propagation From Nonmeristematic Tissues: Nonzygotic Embryogenesis*. CRC Press LLC. p. 187 - 200.
- Gunawan, L. W. 1995. Teknik Kultur *In Vitro* dalam Hortikultura. Penebar Swadaya. Jakarta. 115 hal.
- Hendaryono, D. P. S. dan Wijayani, A. 1994. Teknik Kultur Jaringan, Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman secara Vegetatif Modern. Yogyakarta. Kanisius. 139 hal.
- Husni, A., A. Purwito, I. Mariska, dan Sudarsono. 2010. Regenerasi Jeruk Siam melalui Embriogenesis Somatik. Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Jurnal AgroBiogen 6 (2): 75 – 83.
- Ismail, N. 2009. Prospek Menguntungkan Investasi Budidaya Jeruk Borneo Prima Samarinda: Badan Perizinan dan Penanaman Modal Daerah Propinsi Kalimantan Timur. 52 hal.
- Martasari, C. 2008. Teknologi Perbaikan Jeruk Tanpa Biji. <http://www.balitjestro.litbang.deptan.go.id>. Diakses pada tanggal 01 Desember 2014 pukul 20.00 WIB. 1 hal.
- Murashige, T., F. Skoog. 1962. *A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay with Tobacco Tissue Culture*. Physiologia Plantarum 15 : 117 –125.

- Nurwahyuni, I. 2013. Teknik *In Vitro* Jeruk Keprok Brastagi (*Citrus nobilis* Brastepu) Sebagai Strategi Biokonservasi Mengatasi Kepunahan Jeruk Lokal Sumatera Utara. Brastagi: Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung, 2013. hal 419 - 427.
- Pirawan, S. 2007. Jeruk Pontianak, Coba Bangkit Lagi. <http://www.amanah.or.id>. Diakses pada tanggal 15 Oktober 2014 pukul 19.00 WIB. 1 hal.
- Prihatman, K. 2000. Sistem Informasi Manajemen Pembangunan di Perdesaan. Jakarta: BAPPENAS. 16 hal.
- Purwitasari, A. T., Alamsjah, M. A., Rahardja, B. S. 2012. Pengaruh Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh (Asam-2,4-Diklorofenoksiasetat) Terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis oculata*. Surabaya: Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. *Journal of Marine and Coastal Science* 1 (2) : 61 – 70.
- Rinanto, Y. 2011. Induksi Kalus dan Deteksi Kandungan Alkaloid Daun Jarak (*Jatropha curcas* L.) Menggunakan Hormon 2,4-D dalam Media MS (Murashige Skoog). Surakarta: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sebelas Maret. *Jurnal Agrovigor* Vol. 4 Nomor 1. 6 hal.
- Sjahril, R. 2011. Pembiakan *In Vitro*. Makassar: Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin. 139 hal.
- Setiawan, I. 2001. Inisiasi Kalus Eksplan Daun Melinjo (*Gnetum gnemon*, L) pada Berbagai Arang Aktif dengan Berbagai Konsentrasi BAP+NAA Secara *In Vitro*. [Skripsi]. Padang: Fakultas Pertanian Universitas Andalas. 38 hal.
- Sujatha, M. and A. J. Prabakaran. 2001. *High Frequency Embryogenesis in Immature Zygotic Embryos of Sunflower*. *Journal of Plant Cell Tissue and Organ Culture* 65 : 23 – 29.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz). Yogyakarta: Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* Vol 6 No. 3, 181 – 194.
- Yulianti, T. 2015. Induksi Kalus Beberapa Genotipe Jeruk (*Citrus sp*) Dengan Menggunakan 2,4-D Secara *In Vitro*. [Skripsi]. Padang: Fakultas Pertanian Universitas Andalas. 40 hal.
- Zulkarnain. 2009. Kultur Jaringan Tanaman. Jakarta: Bumi Aksara. 249 hal.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Jadwal Kegiatan Percobaan Bulan Februari sampai April 2015

No	Kegiatan	Minggu Ke-										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Persiapan Alat dan Bahan	■										
2	Sterilisasi Alat											
4	Pembuatan Media	■										
5	Penanaman Eksplan		■	■	■							
6	Pemeliharaan		■	■	■	■	■	■				
7	Pengamatan		■	■	■	■	■					
8	Induksi Kalus		■	■	■	■	■					
9	Pengolahan Data							■	■			
10	Penulisan Skripsi								■	■	■	■

Lampiran 2. Komposisi Media Murashige dan Skoog

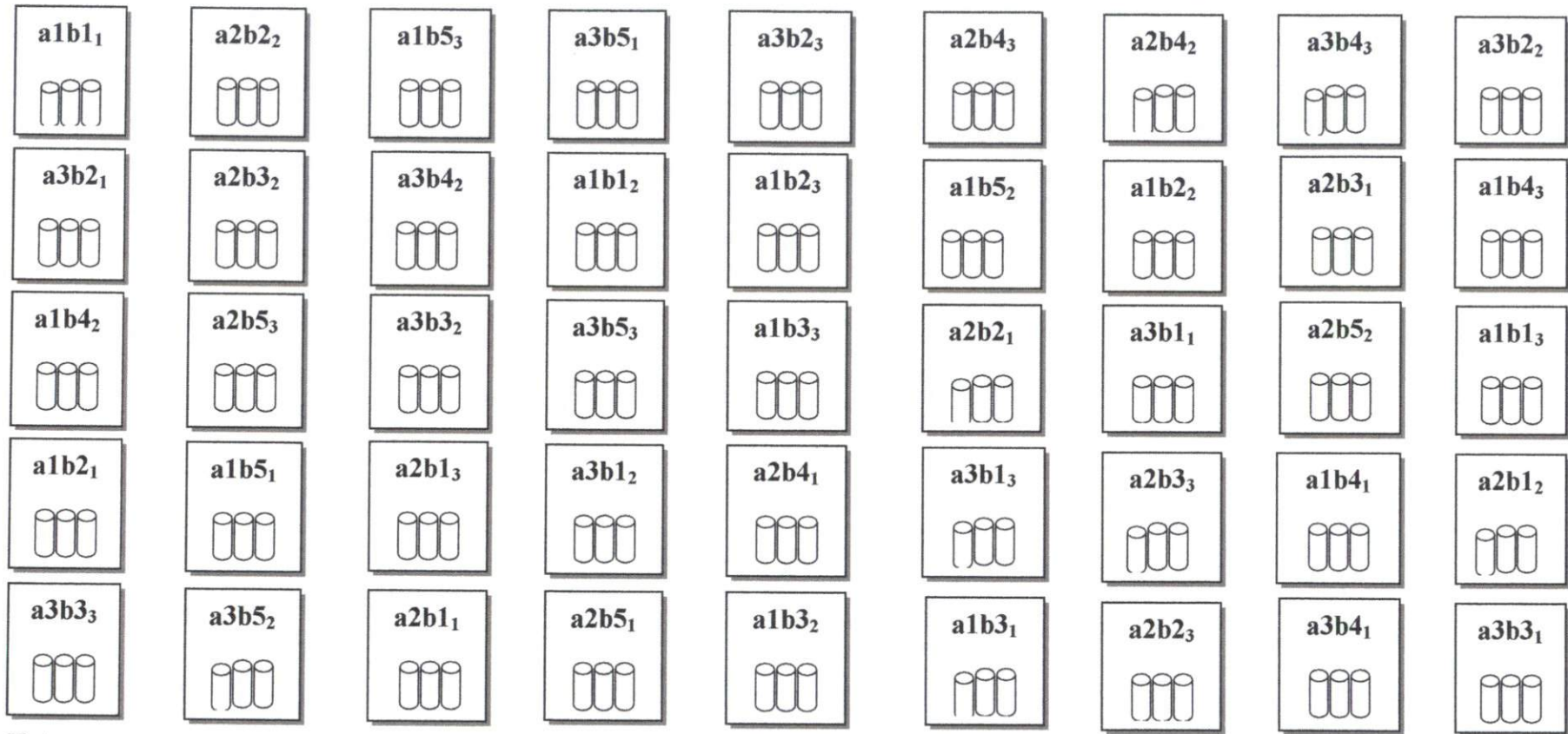
Larutan Baku	Senyawa Penyusun	Kosentrasi Larutan Baku (g/l)	Volume Larutan Medium (ml/l)	Konsentrasi dalam Medium (mg/l)
A	NH ₄ NO ₃	82,500	20,00	1.650,000
B	KNO ₃	95,000	20,00	1.900,000
C	KH ₂ PO ₄	34,000	5,00	170,000
	H ₃ BO ₃	1,240		6,200
	KI	0,166		0,830
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,050		0,250
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,005		0,025
D	CaCl ₂ .2H ₂ O	88,000	5,00	440,000
E	MgSO ₄ .7H ₂ O	74,000	5,00	370,000
	MnSO ₄ .4H ₂ O	4,460		22,300
	ZnSO ₄ .4H ₂ O	1,720		8,600
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,005		0,025
F	Na ₂ EDTA	7,460	5,00	37,300
	FeSO ₄ .7H ₂ O	5,560		27,800
	Thiamin-HCl	0,010	10,00	0,100
	Nicotinic acid	0,050		0,500
	Pyridoxin-HCl	0,050		0,500
	Glycine	0,200		2,000
	Myo-inositol	10,000		100,000
	Sukrosa	20,000		

Sumber : Murashige dan Skoog, 1962

PhytigelTM : 7 g/l media

pH : 5,8

Lampiran 3. Denah Penempatan Botol Kultur di Laboratorium Berdasarkan RAL.



Keterangan :

a₁, a₂, a₃ dan b₁, b₂, b₃, b₄, b₅

1, 2, 3



: Perlakuan

: Ulangan

: Botol Kultur

Lampiran 4. Tabel Analisis Ragam Beberapa Variabel Pengamatan

4a. Tabel Sidik Ragam Waktu Mulai Berkalus

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel
						5%
A	2	2,711	1,356	3,812	*	3,316
B	4	37,200	9,300	26,156	*	2,690
AxB	8	2,400	0,300	0,844	tn	2,266
Galat	30	10,667	0,356	KK = 7,474%		
Total	44	52,978				

Keterangan: * = berbeda nyata, tn = berbeda tidak nyata.

4b. Tabel Sidik Ragam Persentase Ekspian Membentuk Kalus

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel
						5%
A	2	38,401	19,201	1,167	tn	3,316
B	4	93,260	23,315	1,417	tn	2,690
AxB	8	71,316	8,915	0,542	tn	2,266
Galat	30	493,728	16,458	KK = 4,097%		
Total	44	699,706				

Keterangan: tn = berbeda tidak nyata.

4c. Tabel Sidik Ragam Berat Segar Kalus

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel
						5%
A	2	2401,446	1200,723	31,556	*	3,316
B	4	6926,817	1731,704	45,511	*	2,690
AxB	8	8592,109	1074,014	28,226	*	2,266
Galat	30	1141,499	38,050	KK = 5,730%		
Total	44	19061,871				

Keterangan: * = berbeda nyata.

4d. Tabel Sidik Ragam Diameter Kalus

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel
						5%
A	2	0,277	0,136	922,116	*	3,316
B	4	0,047	0,012	78,062	*	2,690
AxB	8	0,027	0,003	22,686	*	2,266
Galat	30	0,005	0,00015	KK = 1,441%		
Total	44	0,356				

Keterangan: * = berbeda nyata.