

## JURNAL METAMORFOSA

### Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

#### Perbanyak Klonal Galur Jeruk Siam Kintamani (*Citrus nobilis* Lour.) Hasil Iradiasi Sinar Gamma

#### Micropropagation of Tangerine var Kintamani (*Citrus nobilis* Lour.) Derived from Gamma Ray Irradiation

Puji Wahyu Lestari<sup>1</sup>, Made Ria Defiani<sup>2</sup>, Mia Kosmiatin<sup>3\*</sup>

<sup>1,2,3</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana

<sup>3</sup>Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

\*Email: [mkosmiatin@yahoo.co.id](mailto:mkosmiatin@yahoo.co.id)

#### INTISARI

Jeruk siam Kintamani disukai oleh konsumen karena memiliki rasa manis, harum, dan daging buahnya lunak, tetapi memiliki biji relatif banyak dan warna kulit kurang menarik. Pemuliaan jeruk terkendala oleh sistem reproduksi yang unik dengan siklus hidup yang panjang, sehingga pemuliaan melalui persilangan seksual memerlukan biaya dan waktu yang panjang. Alternatif untuk meningkatkan kualitas buah jeruk adalah melalui induksi mutasi secara *in vitro* menggunakan sinar gamma pada embrio nuselar. Induksi mutasi pada embrio muda jeruk Kintamani sudah dilakukan pada tahun 2018. Tunas putatif mutan jeruk siam Kintamani diperbanyak secara *in vitro* sehingga diperoleh duplikat dari masing-masing individu putative mutan. Formulasi media dengan penambahan zat pengatur tumbuh pada konsentrasi yang tepat merupakan salah satu kunci keberhasilan dalam kultur jaringan. Tujuan penelitian ini adalah untuk memacu multiplikasi tunas dari eksplan buku. Bahan tanaman yang digunakan adalah planlet jeruk siam Kintamani yang dikecambahkan dari embrio hasil iradiasi sinar gamma dengan dosis 0; 4,5; 5,0; 5,5 Gy. Penelitian multiplikasi tunas menggunakan eksplan buku *in vitro* dengan perlakuan 7 formulasi media. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan media MS modifikasi yang diperkaya dengan 2 mg/L BA dan 2 mg/L GA<sub>3</sub> mampu memperbanyak jumlah tunas dengan baik, sedangkan media MS modifikasi tanpa penambahan ZPT meningkatkan jumlah buku dan daun tetapi juga menginduksi pembentukan akar.

**Kata kunci** : putative mutan, multiplikasi, mutagenesis *in vitro*

#### ABSTRACT

Tangerine var Kintamani is an orange that is preferred by consumers because it is sweet, fragrant, and the flesh is soft, but it has seedy and the rind color is less attractive. Breeding oranges is constrained by a unique reproductive system with a long life cycle, so breeding through sexual crosses requires a lot of money and time. An alternative to improve the quality of orange is through *in vitro* mutagenesis using gamma rays in nucellar embryos. Mutagenesis in young nucellar embryos of Kintamani Tangerine was carried out in 2018. The putative mutant of Tangerine var Kintamani shoots were propagated by *in vitro* technique in order to obtain duplicates of each putative mutant individual. Media formulation with the addition of plant growth regulators at appropriate concentrations is one of the keys to success in tissue culture. The purpose of this study was to multiplication of shoots from single node explants. The plant materials used were Tangerine var Kintamani plantlets which were germinated from embryos derived from gamma ray irradiation with a dose of 0; 4.5; 5.0; 5.5 Gy. The shoot multiplication study used single node explants *in vitro* with the treatment of 7 media formulations. The results showed

that the modified MS media enriched with 2 mg/L BA and 2 mg/L GA were able to increase the number of shoots well, while the modified MS media without the addition of plant growth regulators was able to increase the number of nodes and leaves but also induce root formation.

**Key words:** putative mutant, characterization, multiplication, mutation

## PENDAHULUAN

Jeruk (*Citrus*) merupakan salah satu jenis buah yang banyak dikonsumsi dan digemari oleh masyarakat Indonesia. Tanaman jeruk adalah komoditas hortikultura yang berfungsi sebagai sumber gizi terutama vitamin C (Liu *et al.*, 2012). Hal ini disebabkan karena jeruk memberikan manfaat, diantaranya kandungan vitamin C pada buah, dan bagian tanaman lainnya dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku industri pertanian, obat-obatan, produk pembersih, pewangi, dan sebagainya (Pracaya, 2004).

Bali merupakan salah satu sentra produksi jeruk di Indonesia. Jeruk yang paling dominan dan sudah berhasil dibudidayakan di Bali, khususnya daerah Kintamani Kabupaten Bangli, dikenal sebagai jeruk siam Kintamani (Supartha *et al.*, 2015). Jeruk siam Kintamani dikembangkan dan disukai konsumen karena memiliki rasa yang manis, aroma yang khas, dan produktivitasnya tinggi (Dharmawan *et al.*, 2008), memiliki daya adaptasi yang tinggi dibanding jeruk lainnya (Martasari *et al.*, 2012), serta mengandung banyak air dan kulitnya mudah dikupas (Wulansari *et al.*, 2015). Namun, jeruk siam mempunyai biji yang relatif banyak (14-24 biji per buah) dan warna kulit yang kurang menarik sehingga kalah bersaing dengan jeruk yang diproduksi negara lain. Pemuliaan jeruk melalui persilangan seksual menghadapi kendala sistem reproduksi jeruk yang unik dan memerlukan waktu yang panjang (Kosmiatin dan Husni, 2018). Peningkatan kualitas buah jeruk dapat dilakukan dengan cara teknik mutasi (Uzun dan Yesiloglu, 2012), yaitu induksi mutasi dengan mutagen fisik seperti iradiasi sinar gamma pada jaringan atau sekelompok sel (kalus) (Sutjahjo *et al.*, 2007). Populasi hasil induksi mutasi akan memberikan keragaman yang tinggi sehingga perlu dilakukan karakterisasi dan seleksi berdasarkan target pemuliaan. Sebelum dilakukan seleksi

lebih lanjut, maka individu tunas jeruk putative mutan perlu diperbanyak, sehingga setiap individu akan memiliki duplikasi dan seleksi bisa dilakukan untuk berbagai karakter baik untuk peningkatan kualitas buah maupun peningkatan ketahanan terhadap faktor biotik maupun abiotik (Ibrahim *et al.*, 2009).

Penelitian mikropropagasi dengan eksplan buku sebelumnya sudah dilakukan oleh Hidayati *et al.* (2014) pada induksi tunas *in vitro* dari eksplan buku *in vitro* jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour.) asal Kampar. Individu putatif mutan jeruk siam Kintamani perlu diperbanyak secara klonal *in vitro* sehingga diperoleh duplikat dari masing-masing mutan sebelum dilakukan seleksi selanjutnya. Klonal *in vitro* biasanya dilakukan dengan cara menggandakan tunas baik melalui organogenesis secara langsung maupun tidak langsung. Penambahan zat pengatur tumbuh, ZPT, pada konsentrasi tertentu diharapkan mampu menginduksi multiplikasi tunas.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan formula media untuk dapat memacu multiplikasi tunas dari eksplan buku jeruk siam Kintamani putatif mutan.

## BAHAN DAN METODE

### Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur *in vitro*, Kelompok peneliti Biologi sel dan jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-BIOGEN), Bogor. Penelitian dilakukan dari bulan November 2019 sampai Juli 2020.

### Materi Penelitian

Materi genetik yang digunakan adalah eksplan buku jeruk siam Kintamani yang sudah diinduksi mutasi dengan mutagen sinar gamma dengan dosis 4,5; 5,0; 5,5 gy pada tahun 2018.

Media dasar yang digunakan adalah media dasar MS yang dimodifikasi formula vitaminnya dengan formula vitamin media MW (Morel and Wettmore, 1955). Media dasar ini kemudian ditambahkan ZPT sesuai dengan perlakuan dan ditambahkan 30 g/L gula serta dipadatkan dengan 3 g/l *gelzan*.

**Rancangan Penelitian**

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah dosis radiasi 0, 4,5, 5, dan 5,5 Gy. Faktor kedua yaitu formulasi media yang digunakan dengan penambahan ZPT dengan konsentrasi yang berbeda, yakni (1) MSVMW; (2) MSVMW+BA 2 mg/L; (3) MSVMW+BA 2 mg/L+GA<sub>3</sub> 1 mg/L; (4) MS VMW+BA 2 mg/L+GA<sub>3</sub> 2 mg/L; (5) MSVMW+ BA 2 mg/L + NAA 0,1 mg/L; (6) MSVMW+ BA 2 mg/L+NAA 0,5 mg/L; (7) MSVMW+ BA2 mg/L+NAA 1 mg/L.

**Subkultur Plantlet Berumur 9 Bulan**

*Plantlet* jeruk siam Kintamani putatif mutan yang berumur sembilan bulan disubkultur pada media dasar MS modifikasi tanpa penambahan ZPT. *Plantlet* dikeluarkan dari botol dan dipotong pada bagian pangkal tunas. Selanjutnya tunas ditanam pada media kultur, dalam satu botol terdapat empat tunas jeruk siam Kintamani putative mutan. Hasil kultur diberi label dan diinkubasi pada ruang kultur terang dengan pencahayaan menggunakan lampu neon 20 watt selama 16 jam/hari. Temperatur ruang kultur dipertahankan pada kisara 23-25 °C.

**Multiplikasi Putatif Mutan Jeruk Siam Kintamani**

Tunas dikeluarkan dari botol dan diletakkan di petri. Selanjutnya eksplan buku 1 tunas diisolasi dan ditanam pada tujuh jenis media perlakuan, dimana dalam satu botol ditanam 2 eksplan. Setelah eksplan buku berumur 6 MST, eksplan di subkultur ke dalam media MS modifikasi tanpa penambahan ZPT. Hasil kultur diberi label dan diinkubasi pada ruang kultur cahaya.

**Parameter Pengamatan**

Pengamatan dilakukan setiap minggu. Parameter yang diamati terdiri dari: jumlah tunas, jumlah buku, jumlah daun, dan pembentukan akar.

**Analisis Data**

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisis dengan analisis sidik ragam menggunakan perangkat lunak SPSS v26.0. Uji lanjutan dilakukan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 5%.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Rerata Jumlah Tunas**

Rerata jumlah tunas tidak menunjukkan adanya interaksi antara formula media dengan dosis radiasi. Berdasarkan uji DMRT (Tabel 1) diketahui bahwa rerata jumlah tunas eksplan buku pada 6 MST sampai 12 MST menunjukkan bahwa media MS modifikasi+BA 2 mg/L+GA<sub>3</sub> 2 mg/L memiliki rata-rata jumlah tunas terbanyak dan berbeda secara nyata dibandingkan formulasi media lainnya.

**Tabel 1.** Rerata jumlah tunas jeruk siam Kintamani putatif mutan pada 6 MST dan 12 MST

Perlakuan (mg/L)	Waktu Pengamatan (MST)	
	6	12
Media		
MS VMW	1,03 <sup>ab</sup>	1,38 <sup>a</sup>
MS VMW+BA2	1,28 <sup>ab</sup>	1,66 <sup>a</sup>
MS VMW+BA2+GA <sub>3</sub> 1	1,41 <sup>b</sup>	1,88 <sup>a</sup>
MS VMW+BA2+GA <sub>3</sub> 2	1,84 <sup>c</sup>	2,50 <sup>b</sup>
MS VMW+BA2+NAA0.1	1,16 <sup>ab</sup>	1,34 <sup>a</sup>
MS VMW+BA2+NAA0.5	1,06 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>
MS VMW+BA2+NAA1	1,09 <sup>a</sup>	1,53 <sup>a</sup>
Dosis		
0 Gy	1,11 <sup>a</sup>	1,18 <sup>a</sup>
4,5 Gy	1,25 <sup>ab</sup>	1,70 <sup>b</sup>
5 Gy	1,36 <sup>b</sup>	1,79 <sup>b</sup>
5,5 Gy	1,36 <sup>b</sup>	1,98 <sup>b</sup>

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $\alpha < 0,05$ ) pada uji DMRT taraf 5%.

Formula media MS modifikasi yang dikombinasikan dengan BA dan GA<sub>3</sub> memberikan respon positif untuk mikropropagasi jeruk siam kintamani putatif mutan. BA merupakan ZPT golongan sitokinin yang dapat memacu terjadinya pembelahan sel pada jaringan eksplan dan merangsang multiplikasi tunas perbanyak *in vitro* (Sasmitamiharja, 1996). Rahmi *et al.* (2010) melaporkan bahwa BA pada konsentrasi 2,5 mg/L dapat meningkatkan persentase eksplan mengalami multiplikasi tertinggi untuk multiplikasi tunas pucuk jeruk kanci (*Citrus* sp.). Pemberian kombinasi BA dengan GA<sub>3</sub> pada eksplan buku jeruk siam Kintamani putatif mutan menunjukkan rerata jumlah tunas yang meningkat. Penelitian yang dilakukan oleh Harahap *et al.* (2015) pada tunas mikro tanaman karet (*Hevea brasiliensis*), menunjukkan bahwa kombinasi BA dan GA<sub>3</sub> dapat meningkatkan pembentukan tunas.

Pada rerata jumlah tunas penambahan ZPT kombinasi BA dan NAA, tidak memberikan hasil yang lebih baik daripada kombinasi BA dan GA<sub>3</sub> (Tabel 1). Hal ini diduga adanya NAA yang termasuk ZPT dalam grup auksin menghambat pertumbuhan tunas. Fakta bahwa interaksi NAA dan BA tidak memberikan pengaruh terhadap pembentukan tunas juga pernah dilaporkan oleh Rahmi *et al.* (2010) pada multiplikasi tunas pucuk jeruk Kanci (*Citrus* sp.). Munculnya tunas yang rendah diduga karena auksin endogen pada jeruk tinggi, sehingga pada saat ditambahkan lagi auksin tidak terjadi peningkatan pembentukan tunas. Lestari (2011) menyatakan bahwa pada pembentukan tunas umumnya digunakan ZPT sitokinin, sedangkan untuk pembentukan kalus digunakan ZPT auksin, meskipun demikian, pada jeruk penambahan sitokinin eksogen lebih baik digunakan untuk induksi *kalus*

dibandingkan dengan penambahan auksin eksogen (Kosmiatin *et al.*, 2014).

Induksi mutasi pada jeruk dilakukan untuk meningkatkan keragaman agar dapat dilakukan seleksi untuk berbagai target pemuliaan baik untuk produktivitas, kualitas buah dan peningkatan terhadap penyakit (Kosmiatin dan Husni, 2018). Pada jeruk Kintamani radiasi dilakukan pada embrio muda, untuk meningkatkan perolehan mutan yang stabil. Sampai dosis radiasi 5,5 Gy, eksplan jeruk siam Kintamani tidak mengalami penurunan daya regenerasi untuk membentuk tunas. Pada kalus jeruk keprok radiasi hingga 5 Gy, juga tidak menunjukkan penurunan daya regenerasi, penurunan regenerasi jeruk terjadi pada dosis radiasi sinar gamma diatas 6 Gy (Karyanti *et al.*, 2015)

### **Rerata jumlah buku**

Pada perbanyak klonal, jumlah buku menjadi karakter yang penting karena dari setiap buku dapat diharapkan tumbuh tunas aksilar. Hasil analisis pada rerata jumlah buku jeruk kintamani putatif mutan, tidak menunjukkan adanya interaksi antara media dengan dosis radiasi. Rerata jumlah buku yang dikulturkan pada media MSVMW, pada 6 MST menunjukkan pertambahan rata-rata jumlah buku paling tinggi yaitu 3,28 buku dan meningkat hingga 6.09 pada minggu ke 12 (Tabel 2). Penggunaan media ini berbeda nyata dengan perlakuan yang lain, sehingga untuk meningkatkan jumlah buku jeruk Kintamani putatif mutan, penambahan ZPT tidak menjadi faktor yang menentukan. Hal ini seiring dengan hasil penelitian Putra *et al.* (2015), pada mikropropagasi jeruk keprok yang menunjukkan jumlah buku menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi ZPT kinetin.

**Tabel 2.** Rerata jumlah buku jeruk siam Kintamani putatif mutan pada 6 MST dan 12 MST

Perlakuan (mg/L)	Waktu Pengamatan (MST)	
	6	12
Media		
VMW	3.28 <sup>b</sup>	6.09 <sup>c</sup>
VMW + BA2	0.25 <sup>a</sup>	0.75 <sup>a</sup>
VMW + BA2 + GA <sub>3</sub> 1	0.38 <sup>a</sup>	1.06 <sup>ab</sup>
VMW + BA2 + GA <sub>3</sub> 2	0.41 <sup>a</sup>	1.91 <sup>b</sup>
VMW + BA2 + NAA0.1	0.38 <sup>a</sup>	1.09 <sup>ab</sup>
VMW + BA2 + NAA0.5	0.17 <sup>a</sup>	0.75 <sup>a</sup>
VMW + BA2 + NAA1	0.19 <sup>a</sup>	0.97 <sup>ab</sup>
Dosis		
0 Gy	0.48 <sup>a</sup>	0.77 <sup>a</sup>
4,5 Gy	0.73 <sup>ab</sup>	1.67 <sup>b</sup>
5 Gy	0.68 <sup>a</sup>	1.80 <sup>b</sup>
5,5 Gy	0.99 <sup>b</sup>	2.99 <sup>c</sup>

Dosis radiasi dengan sinar gamma menunjukkan pengaruh yang positif terhadap jumlah buku, meskipun secara umum dosis radiasi seringkali menyebabkan penurunan daya regenerasi (Perera *et al.*, 2015). Pada penelitian ini, daya regenerasi jeruk kintamani putatif mutan justru meningkat seiring peningkatan dosis radiasi hingga 5,5 Gy. Pada kalus jeruk keprok radiasi hingga 5 Gy tidak menunjukkan penurunan daya regenerasi, penurunan terjadi pada dosis diatas 6 Gy (Karyanti *et al.*, 2015)

**Rerata Jumlah Daun**

Untuk parameter jumlah daun, tidak terdapat interaksi antara formulasi media dengan dosis radiasi. Berdasarkan uji lanjut (Tabel 3) diketahui media MS modifikasi dengan formula vitamin Morel dan Wetmore tanpa penambahan ZPT, berbeda secara nyata dengan media lainnya baik pada 6 MST maupun 12 MST, dengan rerata jumlah daun tertinggi 7,41. Media yang paling tidak berespon untuk jumlah daun adalah media yang perkaya dengan kombinasi ZPT BAP dan NAA. Pada media MS modifikasi ini terdapat capantothenat dan biotin. Penggunaan media MS VMW dalam penelitian ini sangat baik digunakan untuk pertumbuhan jumlah daun jeruk siam Kintamani. Hal ini sesuai dengan penelitian Yulianti *et al.* (2015) bahwa

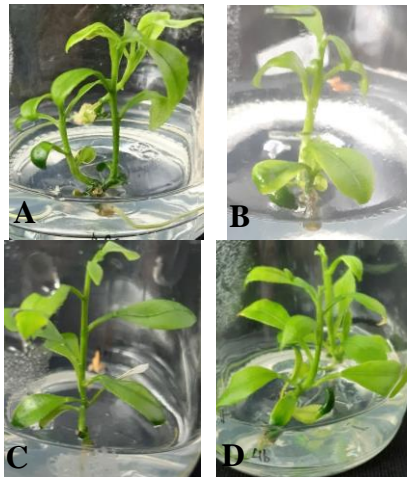
modifikasi MS dengan vitamin MW mampu menghasilkan pertambahan jumlah daun pada induksi tetraploid tunas pucuk jeruk siam Simadu (*Citrus nobilis* Lour).

**Tabel 3.** Rerata jumlah daun jeruk siam Kintamani pada 6 MST dan 12 MST

Perlakuan (mg/L)	Waktu Pengamatan (MST)	
	6	12
Media		
MS VMW	4.25 <sup>b</sup>	7.41 <sup>c</sup>
MS VMW+BA2	0.50 <sup>a</sup>	1.47 <sup>a</sup>
MS VMW+BA2+GA <sub>3</sub> 1	0.78 <sup>a</sup>	1.91 <sup>ab</sup>
MS VMW+BA2+GA <sub>3</sub> 2	0.88 <sup>a</sup>	3.16 <sup>b</sup>
MS VMW+BA2+NAA0.1	0.72 <sup>a</sup>	1.88 <sup>ab</sup>
MS VMW+BA2+NAA0.5	0.44 <sup>a</sup>	1.25 <sup>a</sup>
MS VMW+BA2+NAA1	0.44 <sup>a</sup>	1.62 <sup>ab</sup>
Dosis		
0 Gy	0.66 <sup>a</sup>	1.13 <sup>a</sup>
4,5 Gy	1.18 <sup>b</sup>	2.42 <sup>b</sup>
5 Gy	1.00 <sup>ab</sup>	2.73 <sup>b</sup>
5,5 Gy	1.73 <sup>c</sup>	4.46 <sup>c</sup>

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $\alpha < 0,05$ ) pada uji DMRT taraf 5%.

Seperti halnya pada parameter jumlah tunas dan buku, peningkatan dosis radiasi juga tidak menurunkan kemampuan pembentukan daun pada biakan jeruk Kintamani putative mutan. Untuk melihat apakah dosis iradiasi menyebabkan keragaman pada biakan jeruk kintamani, dapat dilakukan dengan mengamati morfologi daun terutama bentuk dan tepian daun.



**Gambar 1.** Jumlah daun perlakuan media MS VMW (A) Dosis 0 Gy; (B) Dosis 4,5 Gy; (C) Dosis 5 Gy; (D) Dosis 5,5 Gy pada 12 MST

Penambahan auksin eksogen, NAA tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah daun. Dari hasil tersebut diketahui bahwa penambahan 2 mg/l BA yang ditambahkan secara tunggal belum sesuai untuk memacu pertumbuhan jumlah daun. Hal ini diduga karena tidak terdapat perimbangan konsentrasi ZPT yang ditambahkan ke dalam media dan ZPT yang terdapat dalam tanaman. Dalam penelitian ini, BA dikombinasikan dengan NAA dengan konsentrasi (0,1 mg/l; 0,5 mg/l; dan 1 mg/l). Hal ini tidak sesuai dengan pernyataan Hartman *et al.* (1997) bahwa penggunaan sitokinin dengan konsentrasi yang tinggi dan auksin yang rendah sangat penting dalam pembentukan organ. Hal ini juga tidak sesuai dengan hasil yang dilaporkan oleh Harliana *et al.* (2012) bahwa pemberian 2 mg/l BAP memberikan jumlah daun terbanyak pada tanaman jeruk keprok. Perbedaan respon ini disebabkan karena jenis jeruk yang digunakan berbeda, formulasi media untuk jeruk keprok

belum tentu menghasilkan hal yang sama untuk jeruk siam. Respon didalam kultur *in vitro* sangat ditentukan oleh genotipe eksplan sehingga perbedaan jenis tanaman akan memberikan respon yang berbeda terhadap formula media yang sama.

### Rerata Jumlah Akar

Rerata jumlah akar pada 6 MST terdapat interaksi antara perlakuan media dan dosis. Media MS VMW dengan perlakuan dosis 5,5 Gy menunjukkan rata-rata jumlah akar paling tinggi yakni 0,63 akar (Tabel 3) dan berbeda nyata jika dibandingkan dengan kombinasi lainnya. Sedangkan pada saat minggu ke 12 tidak terdapat interaksi karena semua eksplan sejak minggu ke 6 dikulturkan pada media MS VMW tanpa penambahan ZPT, sehingga tidak terlihat lagi pengaruh formulasi media untuk pertumbuhan akar.

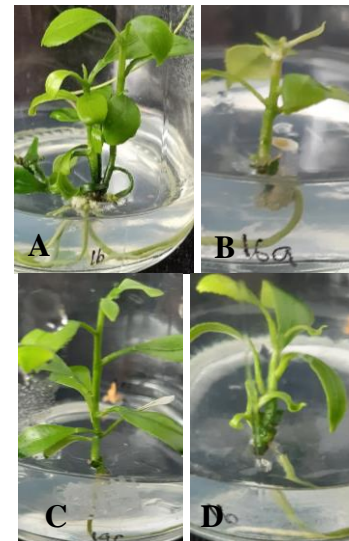
Rerata jumlah akar pada perlakuan media MS VMW menunjukkan rata-rata jumlah akar paling tinggi. Media MS dengan penambahan vitamin MW merupakan media yang optimum digunakan untuk pertumbuhan eksplan jeruk. Media MS VMW mengandung Ca-pantothenat dan biotin. Ca-pantothenat merupakan bahan organik yang berperan dalam pembentukan membran sel, proses mitosis, serta meningkatkan multiplikasi tunas dan perakaran pada kultur *in vitro* (Giridhar *et al.*, 2001). Biotin berperan sebagai kofaktor dalam sintesa protein (Kosmiatin *et al.*, 2014). Meskipun demikian pembentukan akar pada perbanyakan klonal, untuk tahapan awal harus dihindari karena, pada saat akar sudah mulai terbentuk dan tumbuh dengan cepat, multiplikasi tunas menjadi terhambat. Pada perlakuan media dengan penambahan ZPT auksin, sitokinin dan giberelin tidak berhasil memunculkan akar. Hal ini diduga karena perbandingan konsentrasi zat pengatur tumbuh yakni sitokinin (BA) yang tinggi dibanding dengan zat pengatur tumbuh auksin (NAA). Peningkatan auksin yang lebih tinggi dari sitokinin dapat menginduksi pembentukan akar. Penelitian yang dilakukan oleh Rasud dan Anwar (2019) pada induksi tunas jeruk siam dengan penambahan sitokinin yang lebih tinggi dari auksin belum mampu

menginduksi akar. Pada pembentukan akar, medium tanpa penambahan sitokinin lebih baik dari pada medium yang mengandung sitokinin, karena fungsi sitokinin lebih berperan dalam pembentukan tunas (Mahadi, 2015).

**Tabel 2.** Rerata jumlah akar jeruk siam Kintamani dari pada 6 MST

Media*Dosis Radiasi (mg/L)	Waktu (6 MST)
V 0 Gy	0.375 <sup>ab</sup>
V 4,5 Gy	0 <sup>b</sup>
V 5 Gy	0 <sup>b</sup>
V 5,5 Gy	0.625 <sup>a</sup>
V+BA2 0 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA24,5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA25 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA25,5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+GA <sub>3</sub> 1 0 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+GA <sub>3</sub> 1 4,5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+GA <sub>3</sub> 1 5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+GA <sub>3</sub> 1 5,5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+GA <sub>3</sub> 2 0 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+GA <sub>3</sub> 2 4,5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+GA <sub>3</sub> 2 5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+GA <sub>3</sub> 2 5,5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+GA <sub>3</sub> 2 5,5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+NAA0.1 0 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+NAA0.1 4,5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+NAA0.1 5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+NAA0.1 5,5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+NAA0.5 0 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+NAA0.5 4,5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+NAA0.5 5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+NAA0.5 5,5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+NAA1 0 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+NAA1 4,5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+NAA1 5 Gy	0 <sup>b</sup>
V+ BA2+NAA1 5,5 Gy	0 <sup>b</sup>

Keterangan : V= media MS modifikasi; Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $\alpha < 0,05$ ) pada uji DMRT taraf 5%.



**Gambar 2.** Jumlah akar perlakuan media MS VMW dengan dosis (A) 0 Gy; (B) 4,5 Gy; (C) 5 Gy; (D) 5,5 Gy pada 12 MST

**KESIMPULAN**

Perbanyak klonal jeruk siam kintamani putative mutan, untuk induksi penggandaan tunas terbaik dilakukan pada media MS modifikasi yang diperkaya dengan 2 mg/L BA dan 2 m/L GA<sub>3</sub>. Sedangkan untuk meningkatkan jumlah buku terbaik diperoleh dari media MS modifikasi tanpa penambahan ZPT.

**UCAPAN TERIMAKASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ketua Laboratorium Kultur Jaringan, BB-BIOGEN untuk fasilitas peralatan dan bahan yang disediakan selama penelitian.

**DAFTAR PUSTAKA**

Dharmawan, J.S. Kasapis, and P. Curran. 2008. Characterization of volatile compounds in selected citrus fruits from Asia, Part II Peel oil . *Journal of Essential Oil Research*. 20: 21 – 24.

Giridhar, P., O.R. Bandapalli, and R. Gokare. 2001. Silver Nitrate Influences *In vitro* Shoot Multiplication and Root Formation in *Vanilla planifolia* Andr, *Current Science*, 81(9): 1166-1170.

Harahap, L., L.A.M. Siregar, dan D.S. Hanafiah. 2015. Respon GA3 Terhadap Induksi Tunas Mikro Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis* (Muell). Arg),

- Jurnal Agroekoteknologi*, 4(1):1689-1694.
- Harliana., Weaniati., Muslimin., dan I.N. Swastika. 2012. Organogenesis Tanaman Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour.) secara *In vitro* pada Media MS dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi IAA (Indole Acetic Acid) dan BAP (Benzyl Amino Purin), *Jurnal Natural Science*, 1(1): 34-42.
- Hartman, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T., and R.L. Geneve. 1997. *Plant Propagation Principles and Practice Sixth Edition*. Prentice Hall Inc. New Jersey.
- Hidayati, N., W. Lestari, dan M.N. Isda. 2014. Induksi Tunas *In vitro* Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) Asal Kampar dari Eksplan Tunas Apeks dan Nodus *In vitro*, *JOM*, 1(2): 275-282.
- Ibrahim, R., A. Hamzah, Z. Jan Jam, M Bahagia and M Joyo. 2009. Gamma Irradiation-Induced Mutation for the Improvement of Josapine Pineapple Against Bacterial Heart Rot Disease and Improved Fruit Quality. Pp. 274-278. In. Q. Y. Shu (ed). *Induced Plant Mutation in Genomics Era*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome
- Karyanti, A Purwito dan A Husni. 2015. Radiosensitivitas dan Seleksi Mutan Putatif Jeruk Keprok Garut (*Citrus reticulata* L.) berdasarkan Penanda Morfologi. *J.Agronomi Indonesia*. 43 (2): 126 – 132
- Kosmiatin M dan A Husni. 2018. Perakitan varietas jeruk tanpa biji melalui pemuliaan konvensional dan nonkonvensional. *Jurnal Litbang Pertanian*, 37(2): 91-100
- Kosmiatin, M., A. Purwito, G.A. Wattimena, dan I. Mariska. 2014. Induksi Embriogenesis Somatik dari Jaringan Endosperma Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) cv Simadu, *Jurnal Agronomi Indonesia*, 42(1): 44-51.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman Melalui Kultur Jaringan, *Jurnal AgroBiogen*, 7(1): 63-68.
- Liu, Y.Q., E. Heying, and S.A. Tanumiharjo. 2012. History, Global Distribution, and Nutritional Importance of Citrus Fruits, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(6): 530-545.
- Mahadi, I., W. Syafi'i, dan S. Agustiani. 2015. Kultur Jaringan Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*) dengan Menggunakan Hormon Kinetin dan Naftalen Acetyl Acid (NAA), *Jurnal Dinamika Pertanian*, 30(1): 37-44.
- Martasari, C. 2012. Variasi Jumlah Kloroplas dan Kromosom Tanaman Jeruk Siam Pontianak Hasil Perlakuan Colchicin. Peneliti Pemuliaan pada Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika, (*Skripsi*), Belum Dipublikasikan.
- Pereraa, D, D. J. Barnes, B. S. Baldwin, and N. A. Reichert. 2015. Mutagenesis of *in vitro* cultures of *Miscanthus × giganteus* cultivar Freedom and detecting polymorphisms of regenerated plants using ISSR markers. *Industrial Crops and Products*, 65: 110-116
- Pracaya. 2004. *Jeruk Manis: Varietas, Budidaya dan Pascapanen*, Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rahmi, I., I. Suliansyah, dan T. Bustamam. 2010. Pengaruh Pemberian Beberapa Konsentrasi BAP dan NAA Terhadap Multiplikasi Tunas Pucuk Jeruk Kanci (*Citrus* sp.) Secara *In vitro*, *Indonesian Journal of Crop Science*. 3(3): 210-219.
- Rasud, Y., dan H. Anwar. 2019. Induksi Tunas Jeruk Siam dengan Penambahan Benzil Amino Purine (BAP) Secara *In vitro*, *Jurnal Agrotech*, 9(2):50-55.
- Sasmitamiharja, D. 1996. *Fisiologi Tumbuhan*. Bandung: Jurusan PMIPA ITB.
- Supartha, I.W., A.A.I. Kesumadewi, I.W. Susila, I.G.A. Gunadi, dan I.D.P.O. Suardi. 2015. *Profil Jeruk Gianyar 2015*. Gianyar: Pemerintah Kabupaten Gianyar Berkerjasama dengan Fakultas Pertanian Universitas Udayana.
- Sutjahjo, S.H., A. Kadir, dan I. Mariska. 2007. Efektivitas Polietilena Glikol Sebagai Bahan Penyeleksi Kalus Nilam yang



- Diiradisasi Sinar Gamma Untuk Toleransi Terhadap Cekaman Kekeringan, *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*, 9(1): 48- 57.
- Uzun, A., and T. Yesiloglu. 2012. Genetic diversity in citrus. In: Caliskan, M. (ed.) *Genetic diversity in plants*. Rijeka-croatia, Shanghai-China: InTech. Pp.
- Wulansari, A., A. Purwito, A. Husni, dan E. Sudarmonowati. 2015. Kemampuan Regenerasi Kalus Embriogenik Asal Nuselus Jeruk siam serta Variasi Fenotipe Tunas Regeneran, Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia. 1(1): 97-104.
- Yulianti, F., A. Purwito, A. Husni, dan D. Dinarti. 2015. Induksi Tetraploid Tunas Pucuk Jeruk Siam Simadu (*Citrus nobilis* Lour) Menggunakan Kolkisin Secara *In vitro*, *Jurnal Agronomi Indonesia*, 43(1):66-7.