

PERCEPATAN PENYEDIAAN BIBIT JERUK KUOK (*Citrus nobilis* Lour) DENGAN METODE KULTUR EMBRIO

(Overcoming Providing Seeds of Kuok sweet Oranges (*Citrus nobilis* Lour var. Kuok) Using Embryo Culture Methods)

IMAM MAHADI*

Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan FMIPA. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan,
Universitas Riau

*E-mail: imam.mahadi@lecturer.unri.ac.id

ABSTRACT

Kuok sweet oranges or Kuok oranges is derived from Siam oranges (Citrus nobilis Lour) is a local fruit Riau province crowded popular by the public. This fruit provides a promising business opportunity, however the limited availability of seedlings will need to be managed for the assessment of getting ready-to-be seeds available. Therefore, this study aims to determine the effect of IAA and Giberellin on the growth of embryo culture of Kuok oranges (Citrus nobilis Lour). This research uses Factorial Random Design. For the first factor Mikropropagasi IAA (I) consisted of 0 mgL⁻¹ - 3 mgL⁻¹ and the second actor Giberellin (G) consisted of 0 mgL⁻¹ - 4 mgL⁻¹. The parameters measured were the time of shoots, the percentage of live eksplan, the time of the root, the number of shoots, the number of roots, and the shoot height. Data were analyzed using ANOVA and tested further with DNMRT at 5%. The results showed that the combination of IAA and Giberellin significantly affected the growth of plantlets from Kuok sweet organge embryos. The I2G3 treatment (2 mgL⁻¹ IAA and 2 mgL⁻¹ Giberellin) was the best for the average shoot growth time of the fastest 5,67 days after culture, 100% plantlet survival percentage, the average number of shoots was 5.83, the average shoot height was 10.67 cm, average root growth 7.83 days after culture and the average number of roots was 5.33. The plantlets from this study can be used as a source of germplasm for Kuok sweet orange seeds.

Keywords : Giberellin, Embryo Culture, Multiplication shoot.

PENDAHULUAN

Limau manis Kuok adalah salah satu jenis jeruk lokal yang sangat digemari konsumen masyarakat Riau adalah berasal dari jeruk siam asal kecamatan Kuok, kabupaten Kampar Provinsi Riau. Pada awal tahun 2002 di Kabupaten Kampar merupakan sentra penghasil jeruk terbesar di Provinsi Riau, yaitu dengan jenis jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour) yang lebih dikenal dengan nama limau manis kuok atau jeruk kuok (Cahyati *et al.* 2016).

Tingginya permintaan terhadap buah ini, tidak diiringi oleh ketersediaan bibit yang memadai. Adanya kendala dalam budidaya jeruk kuok karena masih terdapat serangan penyakit sehingga menurunkan produksi tanaman ini. Penyediaan bibit untuk tingkat petani dalam membudidayakan tanaman ini perlu dilakukan dengan metode yang lebih inovatif dan tersendiri karena perbanyakan bibit secara konvensional membutuhkan waktu relatif lama dan menghasilkan jumlah bibit sangat terbatas sehingga ketersediaan bibit jeruk kuok tidak mencukupi di tingkat petani (Nurul Hidayati *et al.* 2014).

Di lapangan, masih banyak ditemui kendala lainnya seperti kegiatan penyerbukan buatan dan pembuahan jeruk kuok dapat berhasil, tetapi kadangkala buah yang terbentuk akan gugur saat embrio belum matang. Selain itu pada kegiatan persilangan buatan ini sering juga dijumpai permasalahan terbentuknya bakal buah jeruk kuok memiliki endosperm tidak normal. Pada kondisi seperti ini bisa menjadi kendala pelaksanaan program pemuliaan tanaman disebabkan oleh kondisi embrio yang tidak normal maka benih sering tidak bisa berkecambah dengan normal. Hal ini dapat menyebabkan persediaan bibit jeruk kuok semenjak akhir-akhir ini ketersediaannya berkurang, sehingga perlu dicari solusi untuk penyediaan bibit jeruk kuok (Balitbang 2012). Untuk mengatasi ketersediaan bibit jeruk kuok, salah satu cara perbanyakan bibit dan berkualitas adalah dengan metode kultur jaringan.

Menurut Mahadi *et al.* (2016) kultur jaringan tanaman adalah metode untuk memperbanyak tanaman dengan memisahkan organ-organ seperti sel, jaringan dan organ tanaman ke dalam media kultur yang aseptik, sehingga tanaman tersebut tumbuh dan beregenerasi membentuk tanaman sempurna yang disebut plantlet. Teknik kultur jaringan secara mikropropagasi ini digunakan untuk meningkatkan perbanyakan tanaman yang mempunyai kendala ditingkat bibit. Sehingga tanaman yang sulit diperbanyak secara konvensional, dengan teknik kultur jaringan dapat ditingkatkan ketersediaannya dalam waktu yang relatif singkat dan dengan jumlah yang banyak (Zulkarnain 2014).

Penelitian kultur jaringan jeruk manis Kuok asal kampar sudah dilakukan oleh Firmansyah *et al.* (2017) menggunakan kombinasi hormon auksin 4.00 mg/l-1 2,4-D dan sitokinin 2mg/l-1 thidiazuron (TDZ) memberikan pertumbuhan eksplan yang baik terhadap persentase tumbuhan eksplan, tinggi plantlet, jumlah daun plantlet dan panjang akar plantlet. Widia *et al.* (2017) juga mendapati bahwa penggunaan hormon sitokinin BAP dan Kinetin untuk memacu pertumbuhan tunas eksplan. Kombinasi 2 mg/l-1 BAP dan 5 mg/l-1 kinetin memberikan jumlah tunas dan daun yang terbanyak. Selanjutnya Fathonah *et al.* (2018) melaporkan pemberian hormon BAP dalam merangsang pembentukan pucuk atau tunas pada jeruk Manis asal Kampar (Jeruk Kuok) menunjukkan hasil yang signifikan yaitu 3.6 – 4.00 pucuk.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapat tunas eksplan secara in vitro atau plantlet yang akan di jadikan sebagai sumber perbanyakan bibit jeruk kuok yang memiliki sifat yang sama dengan induknya, bebas dari hama penyakit, homogen, cepat, dalam jumlah yang banyak dan berkualitas. Semua bagian jaringan pada tumbuhan bisa dijadikan objek kultur jaringan, salah satunya adalah embrio yang nantinya disebut kultur embrio tanaman. Kultur embrio yaitu pemisahan embrio tanaman secara steril dari biji baik embrio yang sudah matang atau belum yang dikulturkan ke dalam media agar sevara in vitro, sehingga mendapatkan bibit tanaman bersifat unggul (Erniwitama *et al.* 2018).

Menurut Ayu (2009) penggunaan kultur embrio terdapat dua cara; pertama menggunakan embrio tanaman yang belum matang hal ini dapat mencegah terjadinya keguguran (embryo rescue), dan yang kedua adalah menggunakan embrio tanaman yang sudah matang, hal ini untuk merangsang percepatan proses perkecambahan tanaman (embryo culture). Pada penelitian ini digunakan adalah kultur embrio matang, dengan tujuan dapat mempercepat perkecambahan dan ketersediaan plantlet atau bibit in vitro tanaman jeruk kuok.

Kelebihan kultur embrio adalah untuk mempercepat dormansi biji tanaman jeruk yang mempunyai waktu dormansi yang panjang. Kultur embrio juga dapat mempercepat proses pemuliaan tanaman jeruk dan membantu perkecambahan untuk mencegah kehilangan biji setelah persilangan (Arif 2013). Sedangkan kultur kalus merupakan kumpulan sel tanaman yang belum berdiverensiasi namun secara genetik bersifat poliplodi, yaitu perubahan genetik (Mahadi 2016). Diharapkan dapat menghasilkan plantlet yang mempunyai variasi genetik sehingga jeruk kuok semakin lebih baik terhadap ketahanan terhadap serangan penyakit dan produksi meningkat.

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian yaitu embrio yang bersal dari biji jeruk siam kultivar Kuok dari Balibangda Kabupaten Kampar Povinsi Riau. Untuk induksi dan mikropropagasi embrio menggunakan media MS (Murashige dan Skoog), agar-agar swallow 7 gr/l, sukrosa 30 gr/l, tween 20, fungisida Thiram 80, larutan bayclin, hormon auksin yaitu Asam Indol Asetat (*Indole Acetic Acid*. IAA), dan sitokinin adalah Giberelin, alkohol 98%, aquades destilasi steril, HCl 0,1 N dan NaOH 0,1 N serta bahan pendukung lainnya.

Penelitian Eksperimen ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 3 ulangan setiap masing-masing perlakuan. Untuk kultur embrio faktor pertama IAA (I) dengan konsentrasi antara 0 mg/l-1 - 3 mg/l-1 dan faktor kedua Giberelin (G) dengan konsentrasi antara 0 mg/l - 4 mg/l. Parameter kajian kultur embrio yang diukur adalah waktu muncul tunas, persentase hidup eksplan, jumlah tunas, tinggi tunas, waktu tumbuh akar dan jumlah akar. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan ANOVA selanjutnya diuji lebih lanjut menggunakan DNMRT pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultur Embrio Jeruk Kuok (*Citrus nobilis* Lour kultivar Kuok) menggunakan hormon auksin IAA

Hasil kultur embrio jeruk kuok yang menggunakan hormon IAA saja dari parameter yang kaji mendapatkan hasil yang bervariasi. Rerata semua parameter yaitu presentase hidup eksplan, waktu tumbuh tunas, jumlah tunas dan jumlah menunjukkan hasil berbeda nyata. Perlakuan yang terbaik

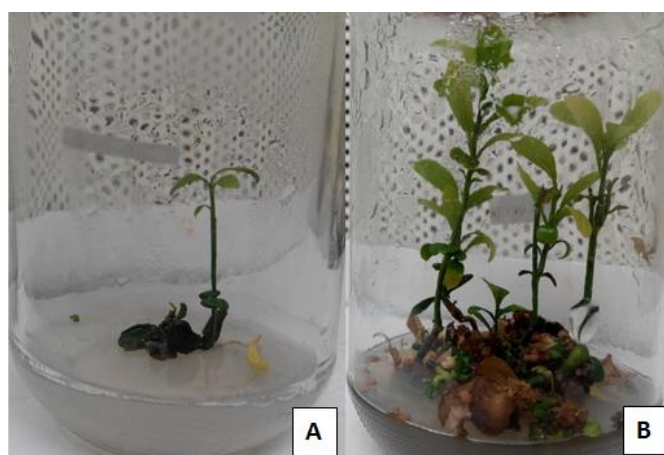
dengan hanya menggunakan IAA saja terdapat pada perlakuan IAA 2 mgL⁻¹ (Tabel 1) dengan mendapatkan rata-rata persentase tumbuh eksplan 83.33%, waktu tunas 7.33 hari, jumlah tunas 3.83 tinggi tunas 2.33 cm dan jumlah akar 4.33. kemudian disusul dengan perlakuan IAA 3 mgL⁻¹ dan IAA 4 mgL⁻¹.

Tabel 1. Pertumbuhan Kultur Embrio Jeruk Kuok (*Citrus nobilis* Lour) menggunakan hormon auksin IAA (*Indole Acetic Acid*)

Perlakuan	Rata-rata Persentase eksplan tumbuh (%)	Rata-rata Waktu Tumbuh Tunas (HSK)	Rata-rata Jumlah Tunas	Rata-rata Tinggi Tunas (cm)	Rata-rata Jumlah Akar
IAA 0 mgL ⁻¹	75.00 ^a	12.67 ^a	1.33 ^b	1.00 ^a	3.33 ^b
IAA 1 mgL ⁻¹	75.00 ^a	10.33 ^b	1.67 ^a	1.33 ^{ab}	3.83 ^b
IAA 2 mgL ⁻¹	83.33 ^b	7.33 ^c	3.83 ^a	2.33 ^c	4.33 ^{ab}
IAA 3 mgL ⁻¹	83.33 ^b	12.00 ^a	2.67 ^a	1.67 ^b	5.67 ^a
IAA 4 mgL ⁻¹	75.33 ^b	12.33 ^a	1.33 ^a	1.67 ^b	5.33 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

Semua parameter yang terdapat pada perlakuan IAA 2 mgL⁻¹ menunjukkan hasil yang terbaik dari semua perlakuan penelitian ini, namun hasil yang agak rendah hanya terdapat pada parameter jumlah akar yaitu 4.33, nilai jumlah akar ini secara analisis statistik juga tidak menunjukkan signifikan terhadap hasil jumlah akar yang terbanyak yang terdapat pada perlakuan IAA 3 mgL⁻¹ dan IAA 4 mgL⁻¹. Rendahnya jumlah akar ini disebabkan oleh kandungan IAA yang lebih sedikit sehingga sebagai hormon auksin yang berfungsi merangsang pertumbuhan sel akar dan memperlambat pembentukan tunas. Menurut Cengiz & Kacar (2019) penggunaan bahwa hormon auksin dalam konsentrasi yang rendah dapat memperlambat pembentukan akar plantlet, karena auksin cenderung merangsang perbanyakkan sel dalam jaringan meristem akar. Jika konsentrasi yang diberikan rendah maka akan memperlambat tumbuh akar. Hal ini terjadi pada tanaman jeruk kuok, dimana semakin rendah konsentrasi IAA yang diberikan, maka semakin lambat pembentukan akar tanaman. Jika IAA yang diberikan dalam jumlah konsentrasi yang rendah dan hormon endogen yang terdapat pada jaringan meristem akar tidak mencukupi, maka akan memperlambat pembentukan akar dan jumlah akan yang terbentuk juga akan menjadi sedikit.



Gambar 1. Jumlah tunas tunas yang terendah dan yang terbanyak. A: Perlakuan kontrol (Tanpa hormon) dan B: Perlakuan 2 mgL⁻¹ IAA dengan rerata jumlah tunas plantlet yang terbanyak.

Kultur Embrio Jeruk Kuok (*Citrus nobilis* Lour kultivar Kuok) Menggunakan Kombinasi Hormon IAA (Auksin) dan Giberelin (Sitokinin) terhadap Multiplikasi Pucuk

Hasil kombinasi hormon auksin dan sitokinin yaitu IAA dan Giberelin Terhadap pertumbuhan eksplan dari kultur embrio Jeruk Kuok (*Citrus nobilis* Lour) dalam merangsang pembentukan multiplikasi pucuk memberikan respons yang bervariasi, secara umum setiap parameter menunjukkan

respons berbeda nyata (signifikan) yaitu, waktu tumbuh tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, waktu tumbuh akar dan jumlah akar. Sedangkan pada parameter persentase hidup eksplan, semua eksplan yang di inisiasi dalam media kultur MS, semua eksplan tumbuh seratus persen (100%) sehingga secara uji statistik menunjukkan tidak signifikan. Hasil pertumbuhan masing-masing parameter dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh Pemberian Kombinasi Hormon IAA dan Giberelin Terhadap Pertumbuhan Mutiplikasi pucuk Platlet dari Kultur Embrio Jeruk Kuok (*Citrus nobilis* Lour).

Perlakuan	Rerata Persentase Hidup (%)	Rerata waktu tumbuh Tunas (HSK)	Rerata Jumlah Tunas	Rerata Tinggi Tunas (cm)	Rerata waktu tumbuh Akar (HSK)	Rerata Jumlah Akar
I ₂ G ₁ (2mg/l ⁻¹ IAA+1mg/l ⁻¹ G3)	100 ^a	9.33 ^c	2.67 ^a	2.33 ^a	9.00 ^a	3.33 ^a
I ₂ G ₂ (2mg/l ⁻¹ IAA+2mg/l ⁻¹ G3)	100 ^a	8.67 ^b	3.33 ^{bc}	2.67 ^a	9.33 ^a	4.33 ^c
I ₂ G ₃ (2mg/l ⁻¹ IAA+3mg/l ⁻¹ G3)	100 ^a	5.67 ^b	5.83 ^d	10.67 ^d	7.67 ^b	5.83 ^b
I ₂ G ₄ (2mg/l ⁻¹ IAA+4mg/l ⁻¹ G3)	100 ^a	7.67 ^b	4.33 ^c	5.33 ^c	9.00 ^a	5.67 ^b
I ₂ G ₅ (2mg/l ⁻¹ IAA+5mg/l ⁻¹ G3)	100 ^a	9.00 ^a	3.00 ^{ab}	3.00 ^b	9.00 ^a	4.67 ^c

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5 %.

Persentase Hidup Eksplan

Hasil analisis perbedaan persentase siklus hidup juga menunjukkan bahwa pemberian hormon IAA saja dan kombinasi hormon IAA dan hormon Giberelin menunjukkan pengaruh yang nyata. Persentase kelangsungan hidup deskriptif diperoleh dari jumlah eksplan yang tumbuh. Tabel 2 menunjukkan rerata persentase hidup eksplan embrio jeruk kuok pada setiap perlakuan kombinasi hormon IAA dan Giberelin.

Dari Tabel 2 terlihat bahwa semua perlakuan menunjukkan persentase hidup eksplan embrio jeruk kuok mencapai 100%, hal ini disebabkan oleh kemampuan auksin dan sitokinin untuk merangsang pertumbuhan dan perkembangan jaringan baik secara eksogen maupun endogen. Senyawa IAA merupakan salah satu jenis auksin yang bekerja dengan baik dalam meningkatkan pertumbuhan eksplan embrio, walaupun auksin memegang peranan utama namun sitokinin sangat penting untuk propagasi sehingga kombinasi auksin dan sitokinin sangat baik merangsang pertumbuhan embrio jeruk kuok. Secara fisiologi benih, embrio memiliki hormon endogen di dalam kotiledon dan titik tumbuh yang bersifat meristematik, sehingga berkemampuan tumbuh berkecambahnya suatu tanaman. Hal ini sejalan dengan pendapat Supriadi *et al.* (2022) yang menyatakan bahwa pemberian jenis hormon sitokinin dapat lebih cepat membantu merangsang perkecambahan dan penggandaan tunas atau pucuk pada kultur jaringan jeruk.

Selain peranan sitokini, hal ini disebabkan karena eksplan embrio jeruk kuok yang dikulturkan hanya mengandung hormon endogen yang ada pada jaringan, sehingga memacu kemampuan tumbuh kultur yang dilakukan. Tanpa adanya penambahan nutrisi pada media kultur tidak memberikan pertumbuhan eksplan yang baik, sehingga pada perlakuan semua perlakuan memberikan persentase tumbuh yang tinggi. Bahan aktif IAA dan unsur makro (N, P, K) dan mikro (Mg, Mn, S, Zn, dan Cu) termasuk dalam zat pengatur pertumbuhan IAA yang sangat dibutuhkan tanaman pada awal pertumbuhan. Hara utama dalam pertumbuhan tanaman adalah N, P dan K.

Waktu Tumbuh Tunas

Pada pemberian kombinasi hormon auksin dan sitokinin antara IAA dengan Giberelin terhadap laju pertumbuhan tumbuh tunas dari kultur embrio jeruk kuok menunjukkan bahwa pemberian kombinasi hormon IAA dengan hormon Giberelin, menunjukkan efek yang signifikan. Pada Tabel 2, menunjukkan rata-rata waktu tumbuh tunas kultur embrio jeruk kuok.

Data hasil yang diperoleh dari tabel 2 menunjukkan waktu tumbuh tunas embrio yang paling lama terjadi pada perlakuan yaitu I₂G₁ (2mg/l⁻¹ IAA+ 1mg/l⁻¹ Giberelin) yaitu 9.33 HSK. Perlakuan ini merupakan perlakuan I₂G₁ dengan pemberian Giberelin hormon sitokinin yang terendah yaitu 1mg/l⁻¹ Giberelin sehingga menyebabkan perkembangan tunas embrio muncul pada waktu yang lama berbanding perlakuan lainnya, sehingga eksplan tidak bisa berkembang dan memperbanyak diri. Hal ini disebabkan konsentrasi hormon Giberelin yang diberikan belum optimal untuk dapat membantu merangsang perbanyakan sel-sel pada jaringan meristem eksplan kultur. Selain itu hormon endogen yang terdapat pada eksplan juga tidak mencukupi dalam membantu merangsang terbentuknya titik tunas (*nud*) yang cepat. Menurut Yanti & Isda (2021), penambahan hormon sitokinin dalam jumlah optimal dapat merangsang dan mempercepat pertumbuhan tunas eksplan sehingga membentuk

plantlet pada metode *in vitro*. Pada kajian ini Gibelerin merupakan hormon jenis sitokinin yang diberikan dengan konsentrasi 1mg/l belum mampu dalam merangsang munculnya tunas eksplan jeruk kuok seingga mendapatkan waktu yang terlama.

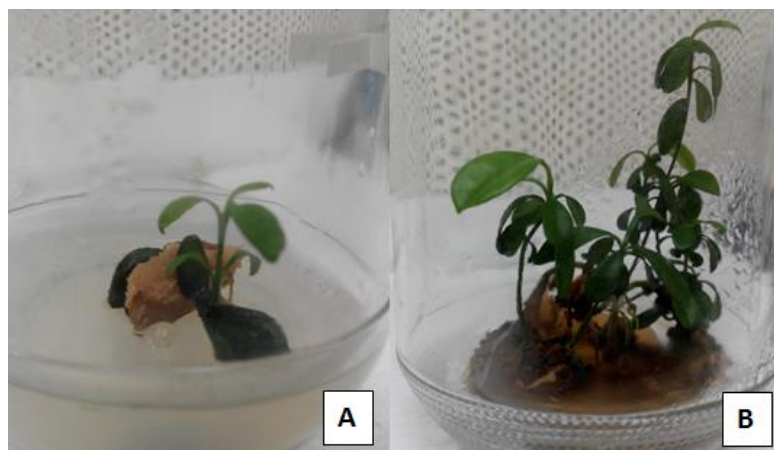
Perlakuan hari tumbuh tunas embrio jeruk kuok yang tercepat terdapat pada perlakuan I_2G_3 yaitu 5.67 HSK dapat dilihat pada tabel 2. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi IAA 2 $mg\ l^{-1}$ dan Gibelerin 3 $mg\ l^{-1}$ adalah perlakuan yang tepat untuk saat muncul tunas tercepat. Perlakuan ini sesuai dengan perannya, bahwa hormon sitokinin Gibelerin merangsang pembelahan sel dan pembentukan tunas, sedangkan auksin membantu pembentukan akar adventif. Terbentuknya tunas selama perlakuan ini menunjukkan bahwa sel-sel mampu merespon hormon IAA dan Gibelerin yang diberikan secara bersamaan. Yusron (2020) menemukan bahwa hormon sitokinin dan auksin biasanya digunakan secara bersamaan untuk merangsang pembentukan tunas pada eksplan kultur jaringan. Halinidibuktikan pada kajian kultur jeruk kesturi. Hal ini juga berlaku pada kajian jeruk kuok, dimana peranan penambah hormon Gibelerin dalam media kultur MS dapat lebih merangsang percepatan tumbuhnya tunas eksplan berbanding hanya pemberian hormon auksin IAA (Tabel1).

Jumlah tunas

Hasil analisis varians jumlah tunas embrio jeruk kuok dengan pemberian kombinasi hormon IAA dengan hormon Gibelerin berpengaruh nyata. Jumlah tunas dihitung pada akhir penelitian dengan menghitung jumlah tunas yang muncul pada embrio jeruk kuok. Banyaknya tunas yang muncul merupakan peranan utama hormon Gibelerin. Gibelerin merupakan hormon sitikinin. Fungsi jenis hormon sitokinin adalah merangsang pembentukan tunas dan perpanjangan sel tanaman (Komairoh dan Gusmalawati, 2023) Rerata jumlah tunas embrio jeruk kuok dapat dilihat pada tabel 2.

Dari Tabel 2, pada perlakuan I_2G_3 (2 $mg\ l^{-1}$ IAA+1 $mg\ l^{-1}$ Gibelerin) merupakan perlakuan yang menghasilkan jumlah tunas paling banyak (Gambar 2). Auksin dan sitokinin merupakan dua zat yang mengatur pertumbuhan tanaman dan sering digunakan untuk menginduksi morfogenetik tanaman. Hal ini ditambahkan oleh Prihastanti *et al.* (2020) yang mengatakan bahwa terdapat interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan pada media kultur dengan zat pengatur tumbuh endogen yang dihasilkan oleh jaringan tanaman itu sendiri dalam pembentukan organ seperti tunas dan akar. Sifat totipotensi sel-sel meristematik, akan membentuk bakal tunas (*nud*) dengan cepat. Sedangkan pada perlakuan yang kosentrasi Gibelerinnya rendah seperti perlakuan I_2G_1 (2 $mg\ l^{-1}$ IAA+1 $mg\ l^{-1}$ Gibelerin) dan I_2G_2 (2 $mg\ l^{-1}$ IAA+2 $mg\ l^{-1}$ Gibelerin) belum optimal untuk merangsang perbanyak jumlah tunas unsur yang maksimal.

Unsur hara yang terkandung dalam media MS belum mampu menginduksi pembentukan tunas dalam jumlah banyak sehingga mengakibatkan pembentukan tunas lebih sedikit. Hal ini menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh baik jenis maupun konsentrasinya merupakan salah satu faktor terpenting yang dapat mempengaruhi pertumbuhan organ dari fragmen jaringan yang ditranspalntasikan.



Gambar 2. Jumlah tunas jeruk kuok. A: Jumlah tunas terendah pada perlakuan I_2G_1 (2 $mg\ l^{-1}$ IAA+1 $mg\ l^{-1}$ Gibelerin) dan B: Jumlah tunas yang tertinggi pada perlakuan I_2G_3 (2 $mg\ l^{-1}$ IAA+3 $mg\ l^{-1}$ Gibelerin).

Menurut Agisimanto *et al.* (2019) konsentrasi yang optimal hormon sitokinin seperti Giberelin BAP, Kinetin dan lainnya yang dikombinasikan dengan auksin akan mempercepat pembentukan tunas tanaman secara *in vitro*. Sitokinin yang berfungsi merangsang dan membentuk tunas tanaman akan bekerja mendifusikan sel-sel yang belum berkembang ke arah diferensiasi tunas, sehingga memperbanyak pembentukan tunas dan menghalangi pembentukan akar tanaman pada kultur *in vitro* (Mahadi *et al.* 2021). Sitokinin juga merangsang plantlet berkembang menjadi tanaman yang lengkap dan siap di aklimatisasikan (Irtanti 2021).

Tinggi tunas

Hasil analisis varians tinggi tunas menunjukkan bahwa pemberian hormon IAA saja dan pemberian kombinasi hormon IAA dengan hormon Giberelin memberikan pengaruh yang nyata. Dari Tabel 2 terlihat bahwa rerata tinggi tunas embrio jeruk kuok paling tinggi terdapat pada perlakuan I_2G_3 (2mg l^{-1} IAA + 3mg l^{-1} Giberelin) yaitu dengan rerata sebesar 10.67 cm (Gambar 3). Sedangkan pada perlakuan lainnya lebih rendah.

Perlakuan rerata tinggi tunas paling rendah yaitu 2.33 cm. Hal ini disebabkan karena eksplan tidak mampu meningkatkan pemanjangan sel karena hanya bergantung pada hormon endogen auksin dan sitokinin dan hormon eksogen dalam konsentrasi rendah belum mampu meningkatkan jumlah pemanjangan sel. Oleh karena itu, perlu dilakukan penambahan hormon eksogen untuk mencapai hasil pertumbuhan eksplan yang optimal. Perlakuan tinggi tunas yang terendah pada I_2G_1 (2mg l^{-1} IAA + 1mg l^{-1} Giberelin) membuktikan bahwa hormon jenis sitokinin berupa Giberelin dalam konsentrasi rendah belum mampu merangsang pemanjangan tunas pada embrio jeruk kuok secara maksimal. Hal ini sejalan dengan pernyataan Tuwo *et al.* (2020) apabila kondisi auksin dan sitokinin endogen belum optimal, sebaiknya ditambahkan auksin dan sitokinin eksogen agar tercapai kerja sama yang optimal antara auksin dan sitokinin. Sedangkan pada perlakuan yang tinggi kandungan hormon eksogen Giberelin menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik namun belum maksimal.



Gambar 3. Tinggi tunas jeruk kuok. A: Tinggi tunas yang terendah pada perlakuan I_2G_1 (2mg l^{-1} IAA + 1mg l^{-1} Giberelin) dan B: Jumlah tunas yang tertinggi pada perlakuan I_2G_3 (2mg l^{-1} IAA + 3mg l^{-1} Giberelin).

Waktu tumbuh akar

Hasil analisis varians hari waktu tumbuh akar menunjukkan bahwa pemberian hormon IAA dan Giberelin memiliki efek nyata, sehingga hasilnya signifikan. Rerata tumbuhnya akar dari kultur embrio jeruk kuok dapat dilihat pada Tabel 2.

Waktu tumbuh akar yang tercepat pada kombinasi perlakuan I_2G_3 (2mg l^{-1} IAA + 2mg l^{-1} Giberelin) yaitu: 7.67 hari setelah kultur (HSK), ini berarti akar embrio muncul pada waktu 7-8 hari setelah hari pengkulturan embrio jeruk kuok. Hal ini disebabkan karena efek penambahan IAA pada media, menjadi efektif dan dapat meningkatkan laju pertumbuhan akar dari embrio jeruk kuok. Penambahan hormon IAA dengan konsentrasi 2mg l^{-1} dan penambahan Giberelin 3mg l^{-1} akan menyebabkan pertumbuhan akar akan lebih lambat waktunya. Jika dibandingkan dengan hanya menggunakan hormon IAA saja yaitu pertumbuhan akar plantlet selama 7.33 HSK, tidak jauh berbeda nyata waktu tumbuhnya dengan kombinasi IAA dan Giberelin khususnya pada perlakuan I_2G_3 (2mg l^{-1} IAA + 2mg l^{-1} Giberelin). Namun jika kandungan Giberelin semakin tinggi pada perlakuan kultur maka

semakin lambat pertumbuhan akar plantlet, ini terlihat pada perlakuan I_2G_1 (2mg l^{-1} IAA + 1mg l^{-1} Giberelin), I_2G_2 (2mg l^{-1} IAA + 2mg l^{-1} Giberelin), I_2G_4 (2mg l^{-1} IAA + 4mg l^{-1} Giberelin) dan I_2G_5 (2mg l^{-1} IAA + 5mg l^{-1} Giberelin) yang rerata tumbuh akarnya 9 hari dan tidak menunjukkan perbedaan nyata.

Menurut Handayani *et al.* (2020) menyatakan bahwa akan lebih cepat pertumbuhan akar plantlet dengan menambahkan hormon auksin sehingga dapat meningkatkan tekanan osmotik, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, sehingga terjadi pengurangan tekanan pada dinding sel, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan plastisitas dan pengembangan dinding sel. Sedangkan waktu tubuh akar terlama disebabkan oleh pengaruh hormon endogen yang terdapat dalam eksplan itu sendiri tidak bekerja secara maksimal dan jumlah hormonnya yang kurang mencukupi untuk merangsang pembelahan sel akar. Hal ini membuktikan bahwa jenis zat pengatur tumbuh sangat berpengaruh terhadap terbentuknya akar embrio jeruk kuok.

Jumlah akar

Hasil Analisis uji lanjut DMRT 5% menunjukkan bahwa pertumbuhan jumlah akar kultur embriojeruk kuok dengan pemberian hormon IAA dan Giberelin memberikan pengaruh yang nyata. Hasil jumlah akar diperoleh dengan menghitung jumlah akar yang dihasilkan dari kultur embrio jeruk kuok. Rerata jumlah akar embrio jeruk kuok ditunjukkan pada Tabel 2.

Dari Tabel 2 terlihat bahwa perlakuan kombinasi hormon IAA dan Giberelin memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah akar pada kultur embrio jeruk kuok. Pada perlakuan pada I_2G_3 (2mg l^{-1} IAA + 3mg l^{-1} Giberelin) menghasilkan jumlah akar terbanyak yaitu: 5.83 dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan I_2G_4 (2mg l^{-1} IAA + 4mg l^{-1} Giberelin), hal ini karena penambahan Giberelin dalam konsentrasi tinggi dapat memperlambat pertumbuhan akar plantlet kultur. Menurut Handayani *et al.* (2020), penambahan hormon sitokinin ke dalam media kultur pada konsentrasi tinggi dapat memperlambat pertumbuhan akar. Hal ini disebabkan proses pembelahan sel akan terbagi konsentrasi yang penyediaan bahan asam amino sebagai akibat pembelahan sel lebih terkonsentrasi pada diferensiasi pembentukan tunas nudes berbanding primordia nudes akar. Jika konsentrasi sesuai akan mendorong pertumbuhan akar dan menghasilkan lebih banyak akar dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sedangkan pada perlakuan I_2G_1 (2mg l^{-1} IAA + 1mg l^{-1} Giberelin) jumlah akar yang dihasilkan sedikit yaitu 3.33, hal ini disebabkan karena media MS tidak mengandung unsur hara tambahan dan pertumbuhan akar tanaman hanya bergantung pada hormon endogen yang terkandung dalam tanaman dan tidak mencukupi untuk menghasilkan akar dalam jumlah besar.

Menurut Ahmed *et al.* (2023) Auksin merupakan hormon tanaman yang dapat mendukung proses fisiologis seperti pertumbuhan, pembelahan dan diferensiasi sel serta sintesis protein. Auksin memiliki kemampuan untuk mempengaruhi dinding sel dan mendorong pembelahan sel, memunculkan primordia nudes akar. Selain auksin, kandungan Nitrogen pada hormon auksin IAA senyawa dalam proses pembelahan sel dalam sintesis protein.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Kombinasi IAA dan Giberelin berpengaruh terhadap pertumbuhan nyata terhadap pertumbuhan kultur embrio Jeruk Kuok (*Citrus nobilis* Lour). Perlakuan I_2G_3 (2mg l^{-1} IAA + 3mg l^{-1} Giberelin) merupakan perlakuan yang terbaik terhadap parameter presentase hidup eksplan, waktu tumbuh tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, waktu tumbuh akar dan jumlah akar terbanyak. Dengan demikian penelitian ini dapat mempercepat dalam penyediaan bibit secara in vitro untuk kajian penelitian maupun plasmah nuftah bibit jeruk kuok.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Ketua laboratorium Bioteknologi dan Dekan Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau, Ketua Prodi pendidikan Biologi, Ketua Labor Pendidikan Biologi dan Dekan FKIP Universitas yang telah memberikan izin kepada peneliti untuk melaksanakan penelitian ini. Serta semua pihak yang telah berkontribusi dan membantu dalam penelitian dan penulisan naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agisimanto, D, Normah, MN & Ibrahim, R, 2019 'Rapid somatic embryogenesis of *Citrus reticulata* Blanco cv. Madu in An Air-Lift Bioreactor Culture', *AGRIVITA Journal of Agricultural Science*. Vol. 41, no. 2, pp. 284-294.
- Ahmed, AA, Bashi, AZK & Alwan, JM, 2023, 'Micropropagation of three citrus rootstocks by tissue culture' In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, vol. 1214, no. 1, pp. 12-22.
- Balilashaki, Vahedi, & Karimi, 2015 'In Vitro direct regeneration from node and leaf explant of *Phalaenopsis* cv. Surabaya', *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, vol. 25, no. 2, pp. 193-205
- Balitbag, 2012 *Jendela Informasi Riau*. (Online), <http://www.riauonline.com/berita/print/balitbag-sukses-teliti-jeruk-carizzo-dan-siam-kampar.html> (diakses 19 Desember 2014).
- Cahyati, S, Isda, MN & Lestari, W 2016 'Induksi tunas dari eksplan kotiledon dan epikotil in vitro jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour) asal kampar pada media MS', *Jurnal Riau Biologia*, vol. 1, no. 5, pp. 31-38
- Cengiz, M, & Kaçar, YA 2019, 'Micropropagation of some citrus rootstocks with classical and new generation tissue culture techniques', *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, vol. 7, no. 9, pp. 1469-1478. DOI: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v7i9.1469-1478.2846>
- Dian Pramita Wardani, Solichatun, Ahmad Dwi Setyawan, 2004, 'Pertumbuhan dan produksi saponin kultur kalus talinum paniculatum gaertn pada variasi penambahan asam 2,4-Diklorofenoksi Asetat (2,4-D) dan kinetin', *Biofarmasi* vol. 2 no. 1, pp. 35-43
- Darnell, J, Lodish, H & Baltimore, H 1986, *Molecular Cell Biology*. Scientific American Books, Inc. New York.
- Depdiknas. 2008, *Panduan Pengembangan Bahan Ajar*. Departemen Pendidikan Nasional, Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Atas, Jakarta.
- Erniwitama, Taryono & Harimurti, R, 2018 'Effect of explant types and benzyl amino purine concentrations on the in vitro regeneration of several local eggplant cultivars', *Agrinova* vol. 1 no. 1, pp. 1-7.
- Fatonah S, Lestari W, Isda, MN & Purba, L, 2018 'In Vitro shoot regeneration of *Citrus Nobilis* Lour. from intact seed and cotyledon explants', *Sabrao Journal Of Breeding and Genetics*, vol. 50, no. 2, pp. 168-179.
- Firman, S, Mahadi, I & Darmawati, 2017 'Mikropropagasi In Vitro Jeruk Kuok (*Citrus Nobilis* Lour) Menggunakan Hormon 2,4-D dan TDZ sebagai Potensi Rancangan Modul Pembelajaran Biologi SMA', *JOM FKIP UNRI*
- Handayani, I, Nazirah, L & Handayani, SS, 2020 'The effect of BAP and IBA on in vitro root cultures of acehnes pomelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.)', *Journal of Tropical Horticulture*, vol. 3, no. 1, pp. 38-42.
- Indah & Ermavitalini, 2013 'induksi kalus daun nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn) pada beberapa kombinasi konsentrasi 6-benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-diclorophenoxyacetit acid (2,4-D)', *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, vol. 2, no. 1, pp. 2337-3520.
- Intarti, I, 2021 'Optimasi variasi zat pengatur tumbuh NAA (naphthalene aceticacid) dan BAP (benzylaminopurine) pada pembentukan plantet tanaman jeruk siam (*Citrus nobilis* var. Microcarpa) secara Invitro', *Borneo Journal of Science and Mathematics Education*, vol. 1, no. 1, pp. 17-28.
- Komairoh, S & Gusmalawati, D, 2023, 'Respon pertumbuhan in vitro epikotil jeruk siam pontianak (*Citrus nobilis* L. var microcarpa) dengan penambahan ekstrak tomat dan benzylaminopurin (BAP)', *G-Tech: Jurnal Teknologi Terapan*, vol. 7, no. 3, pp. 888-896.
- Leupin, Ruth E, Leupin Mariane, Charles Ehret, Karl H. Erismann, and Witholt Bernard 2000, 'Compact callus induction and plant regeneration of a non-flowering vitiver from java. plant cell, tissue and organ culture', *Switzerland*, vol. 62, pp. 115-123
- Lestari EG, 2011 'Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan', *Jurnal AgroBiogen*, vol. 7, no. 1, pp. 63-68.
- Mahadi I, Syafi'i W, Sari Y, 2016 'Induksi kalus jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) menggunakan hormon 2,4-D dan BAP dengan metode in vitro', *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, vol. 21, no. 2 pp. 84-89.
- Mahadi, I, Wulandari, S, Safii, W & Sayuti, I, 2021 'Kultur suspensi sel tanaman gajah beranak (*Goniotalamus tapis* Miq) terhadap kandungan zat goniotalamine, *Jurnal Agro*, vol. 8, no. 2, pp. 247-261.

- Maryani, Y & Zamroni, 2005 'Penggandaan tunas krisan melalui kultur jaringan', *Ilmu Pertanian*, vol. 12, no. 1, pp. 51-55
- Mustika, T, Elis, T & Nicen, M, 2022 'Respon pertumbuhan biji jeruk keprok *Citrus reticulata* Blanco pada beberapa teknik sterilisasi', *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan* vol. 13, no. 2 pp. 32 – 39.
- Nurul Hidayanti, Lestari, W, Isda MN, 2014 'Induksi tunas in vitro jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour) asal kampar dari eksplan tunas apeks dan nodus in vitro, *JOMFMIPA*, vol. 1, no. 2, pp. 275-282
- Prihastanti, E, Hastuti, ED & Suedy, SWA, 2020 'Short communication: comparing the growth of stem explants between *Citrus reticulata* var. Tawangmangu and *C. reticulata* var. Garut using in vitro culture methods', *Biodiversitas*, vol. 21, no. 12, pp. 5845-5849.
- Robles-Martinez, M, Barba-de la Rosa, AP, Gueroud, F, Nigre-Salvayre, A, Rossognol, M & Santos-Diaz, MS, 2016 'Establishment of callus and cell suspensions of wild and domesticated *Opuntia* Species: Study on their potential as a source of metabolite production', *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, vol. 124, no. 1, pp. 181-189.
- Widia, SW, Mahadi, I & Darmawati, 2017 'Multiplikasi tunas dengan metode kultur jaringan jeruk kuok (*Citrus nobilis* Lour) menggunakan hormon Benzyl Amino Purine (BAP) dan kinetin sebagai rancangan lembar kerja siswa biologi di SMA, *JOM FKIP UNRI*.
- Supriadi, M, Nopsagiarti, T & Ezward, C, 2022 'Kinetin concentration test on growth castury orange (*Citrus microcarpa* B.) on medium woody plant medium (WPM)', *In Proceeding of International Conference on Science and Technology*, pp. 1-6.
- Tuwo, M, Tambaru, E, & Marianty, N, 2022 'Respon pertumbuhan biji jeruk keprok *Citrus reticulata* Blanco pada beberapa teknik sterilisasi. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 13(2):
- Yanti, D & Isda, MN, 2021 'Shoots induction of nodes (*Citrus microcarpa* Bunge.) with addition 6-Benzyl Amino Purine (BAP) by in vitro: induksi tunas dari eksplan nodus jeruk kasturi (*Citrus microcarpa* Bunge.) dengan penambahan 6-Benzyl Amino Purine (BAP) secara in vitro', *Biospecies*, vol. 14, no. 1, pp. 53-58.
- Yusron, TN, 2020 'Respon pertumbuhan eksplan jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) terhadap pemberian Benzyl Amino Purin (BAP) dan arang aktif pada media MS, *Jurnal Agro Indragiri*, vol. 5, no. 2, pp. 1-16.
- Zulkarnain 2014, *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*, Bumi Aksara, Jakarta.