

**INDUKSI TUNAS DARI EKSPAN NODUS JERUK KASTURI
(CITRUS MICROCARPA BUNGE.) DENGAN PENAMBAHAN
6- BENZYL AMINO PURINE (BAP) SECARA IN VITRO**

Shoots Induction of nodes (Citrus microcarpa Bunge.) with addition 6- Benzyl Amino Purine (BAP) by In Vitro

Defila yanti, Mayta Novaliza Isda.

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau

Email: defila.yanti0112@student.unri.ac.id

Abstract Kasturi orange (*Citrus microcarpa* Bunge.) is a medicinal plant that contains chemical compounds from secondary metabolites. Limitations of the seed and slow rate of growth is a challenge in the Kasturi orange plant propagation. Propagation of shoots in the kasturi orange can be produced quickly with shoots induction in vitro. This study aims investigate the influence and determine the concentration of BAP in inducing shoots from nodes kasturi orange explants in vitro. This research was conducted at the Integrated Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, The University of Riau from March - September 2020 using completely randomized design (CRD) which consists of 6 (six) treatments than is control BAP (1,2,3,4,5 mg / L). Results showed BAP had a significantly affect the number of shoots and shoot length. The treatment of 1 mg / L BAP produces the highest number of shoots that 2.50. The highest callus growth was in the treatment of 5 mg / L BAP. The shoot appears fastest time is 12.00 day after planting (DAP) contained in the treatment of 2 mg/L BAP.

Keywords: *BAP, Citrus microcarpa Bunge., Induction Shoots, In Vitro*

Abstrak Jeruk kasturi (*Citrus microcarpa* Bunge.) merupakan tumbuhan berkhasiat obat yang mengandung senyawa kimia hasil metabolit sekunder. Keterbatasan benih dan laju pertumbuhan yang lambat merupakan tantangan dalam perbanyakan tanaman jeruk kasturi. Perbanyakan tunas pada jeruk kasturi dapat diproduksi cepat dengan induksi tunas secara in vitro. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan menentukan konsentrasi BAP terhadap pembentukan tunas dari eksplan nodus jeruk kasturi menggunakan teknik in vitro. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau dari bulan Maret – September 2020 dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 6 perlakuan yaitu kontrol, BAP (1,2,3,4,5) mg/L. Hasil penelitian menunjukkan pemberian BAP berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas dan panjang tunas. Perlakuan 1 mg/L BAP menghasilkan jumlah tunas yang paling banyak yaitu 2,50. Pertumbuhan kalus yang paling tinggi adalah pada perlakuan 5 mg/L BAP. Waktu muncul tunas tercepat yaitu 12,00 hari setelah tanam (HST) terdapat pada perlakuan 2 mg/L BAP.

Kata kunci: *BAP, Citrus microcarpa Bunge., Induksi Tunas, In Vitro*

PENDAHULUAN

Jeruk kasturi banyak tersebar diseluruh Asia Tenggara terutama di Filipina, Malaysia, termasuk Indonesia. Di Sumatera tanaman jeruk kasturi banyak dibudidayakan di daerah Sumatera Barat dan Sumatera Utara. Menurut *Cheong et al.* (2012). Jeruk kasturi banyak diminati oleh masyarakat sebagai bahan minuman dan sebagai aroma makanan (Abdullah 2012). Jeruk kasturi kaya akan kandungan metabolit sekunder seperti asam sitrat, asam amino, dan minyak atsiri dan memiliki kandungan vitamin C juga antioksidan yang tinggi. Jeruk ini bermanfaat bagi industri farmasi dan kosmetik karena kandungan flavonoidnya (Bal 1997; Jamal *et al.* 2000). Penyediaan bibit jeruk kasturi umumnya diperbanyak dengan biji namun penggunaan biji sebagai pengembangan memiliki beberapa kelemahan. Perbanyak dengan biji akan memerlukan masa vegetatif yang panjang. Salah satu solusi yang dapat membantu dalam penyediaan bibit jeruk kasturi dengan perbanyak secara kultur jaringan (*in vitro*).

Zat pengatur tumbuh golongan sitokinin yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah BAP karena BAP memiliki efektivitas yang tinggi dan berpengaruh terhadap inisiasi tunas, panjang tunas dan juga memicu pembentukan tunas samping, pelebaran daun dan merangsang pembentukan pucuk (Ashraf *et al.* 2014). Faktor lain yang dapat mempengaruhi keberhasilan dalam induksi tunas adalah sumber eksplan. Penggunaan nodus pada kultur *in vitro* sangat baik karena pada nodus akan terbentuk tunas lateral dan cabang. Penggunaan nodus lebih cepat daripada bagian tanaman lainnya kecuali biji. Penggunaan eksplan nodus diharapkan dapat menginduksi tunas yang banyak.

Penelitian yang dilakukan oleh Miah *et al.* (2008) pemberian 1 mg/l BAP pada media MS dan BAP menghasilkan jumlah tunas dari eksplan nodus *Citrus macroptera* Mont. sebanyak 4,88 tunas per eksplan. Penelitian ini bertujuan Mengetahui dan menentukan konsentrasi terbaik BAP terhadap pembentukan tunas dari eksplan nodus jeruk kasturi (*Citrus microcarpa* Bunge.) menggunakan teknik *in vitro*.

METODOLOGI

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari 6 (enam) taraf

perlakuan dan 5 (lima) ulangan, sehingga didapatkan 30 (tiga puluh) unit percobaan. Perlakuan pada penelitian ini yaitu 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 mg/L BAP menggunakan media *Murashige and Skoog* (MS). Tunas nodus *in vitro* dipindahkan ke dalam cawan petri yang terdapat sedikit akuades. Tunas nodus kemudian dipotong dengan ukuran panjang ± 1 cm. Tunas yang sudah dipotong dimasukan kedalam botol kultur yang berisi media sesuai dengan perlakuan dengan posisi eksplan ditegakkan pada media. Setiap botol terdiri dari 1 (satu) tunas nodus. Setelah selesai penanaman semua botol kultur disimpan pada rak kultur yang terdapat di ruang inkubasi. Parameter yang diamati adalah persentase eksplan hidup, waktu muncul tunas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Eksplan Hidup dan Waktu Muncul Tunas

Persentase Eksplan Hidup (%)

Pemberian BAP yang berbeda-beda pada media, mampu meningkatkan persentase eksplan hidup 100% hingga 50 HST (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa pada media MS sudah dapat menunjang presentase ekplan hidup. Eksplan yang hidup juga dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu: umur eksplan, ukuran eksplan dan komposisi media. Eksplan yang digunakan adalah nodus *in vitro*. Nodus *in vitro* ini bersifat meristematik sehingga sel – selnya masih aktif membelah dan memiliki daya regenerasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan jaringan tanaman yang tua dan memiliki kemampuan bertahan hidup karena kondisi *in vitro* lebih steril sehingga tingkat kontaminasi terhadap eksplan rendah.

Tingkat presentase hidup eksplan yang tinggi dalam penelitian ini juga dipengaruhi oleh kandungan nutrisi pada media pertumbuhan yang tersedia dalam jumlah yang cukup. Menurut Isda dan Fatonah (2014) media dasar yang sering digunakan dalam induksi tunas adalah media *Murashige Skoog* (MS) media ini mengandung unsur hara makro dan unsur hara mikro sehingga dapat meningkatkan presentase eksplan hidup pada kultur *in vitro*. Eksplan yang hidup pada penelitian ini ditandai dengan eksplan nodus yang berwarna hijau dan segar.

Waktu Muncul Tunas (Hari)

Pada penelitian ini waktu muncul tunas tidak berpengaruh nyata hingga 50 HST. (Tabel 1) rata – rata waktu muncul tunas berkisar antara 12,00 HST – 16,33 HST. Pada hasil dapat dilihat bahwa waktu muncul tunas yang paling cepat adalah pada perlakuan 2 mg/ L BAP dengan rata – rata 12,00 HST. Kecepatan waktu muncul tunas yang terjadi pada eksplan dikarenakan adanya interaksi yang tepat antara hormon endogen dari eksplan dengan hormon eksogen. Waktu muncul tunas yang paling lama adalah 5 mg/ L BAP yaitu dengan rata – rata 16,33 HST. Penggunaan zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi yang tinggi akan menghambat perkembangan eksplan nodus jeruk kasturi sehingga waktu muncul tunas lebih lama.

Pada penelitian ini rata – rata kontrol waktu muncul tunas adalah 16,00 HST. Waktu muncul tunas pada perlakuan kontrol hasilnya tidak jauh beda dengan 5 mg/L BAP. Hal ini dikarenakan pada kontrol tidak ada penambahan zat pengatur tumbuh sehingga waktu muncul tunas yang dihasilkan lebih lama sedangkan pada 5 mg/L BAP penggunaan zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi yang

tinggi menghambat waktu muncul tunas. Karla dan Bhatla (2018) menjelaskan bahwa sitokinin efektif dalam merangsang kerja fisiologis pada tanaman tergantung pada konsentrasi dan jenis tanaman, pada konsentrasi tinggi berfungsi menghambat kerja fisiologis.

Pengaruh BAP dalam pertumbuhan awal sangat dominan, hal ini dikarenakan bahwa sitokinin sering digunakan untuk merangsang pertumbuhan dan perkembangan. Hartmann *et al.* (2002) menyatakan bahwa dengan penambahan zat pengatur tumbuh yang sesuai dapat meningkatkan aktivitas pembelahan sel dalam proses morfogenesis dan organogenesis pada tanaman. Penggunaan konsentrasi BAP yang rendah pada eksplan nodus cenderung mempercepat pembentukan tunas dibandingkan dengan penggunaan konsentrasi BAP yang tinggi. Apabila sitokinin dalam media MS berada dalam jumlah yang cukup maka akan melakukan pembelahan yang lebih cepat. Penggunaan 2 mg/L BAP mempengaruhi pertumbuhan, mendorong pembelahan sel dan memiliki tingkat efektivitas yang tinggi terhadap pembentukan tunas sehingga mempercepat waktu muncul tunas.

Tabel 1. Persentase eksplan hidup dan waktu muncul tunas pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh *Benzyl Amino Purine* (BAP) 50 hari setelah tanam

| Kode | Perlakuan | Presentase eksplan hidup (%) | Waktu muncul tunas (HST) |
|------|------------|------------------------------|--------------------------|
| | BAP (mg/L) | | |
| P1 | Kontrol | 100 | 16,00 ± 1,41 |
| P2 | 1 | 100 | 12,50 ± 0,70 |
| P3 | 2 | 100 | 12,00 ± 3,60 |
| P4 | 3 | 100 | 13,33 ± 1,52 |
| P5 | 4 | 100 | 14,00 ± 2,00 |
| P6 | 5 | 100 | 16,33 ± 2,08 |

Pertumbuhan Tunas

Jumlah tunas

Pada (Tabel 2) dapat dilihat bahwa jumlah tunas yang dihasilkan adalah pada 1 mg/L BAP yaitu 2,50 tunas. Hal ini diduga karena peran fisiologis sitokinin BAP dengan konsentrasi yang rendah berpengaruh pada kultur *in vitro* untuk mendorong pembelahan sel dan pertunasan serta memicu jumlah tunas. Pada pemberian 4 mg/L BAP menghasilkan tunas yang

sedikit yaitu 1,00 tunas . Penambahan zat pengatur tumbuh sitokinin dengan konsentrasi yang tinggi pada eksplan nodus menghambat eksplan untuk membentuk tunas, sehingga pertumbuhan tunas pada eksplan akan berkurang.



Gambar 1. Pembentukan tunas dari eksplan nodus dengan pemberian 1 mg/L BAP

Pada penelitian Rohmawati (2015) multiplikasi tunas dari eksplan nodus jeruk siam *Citrus nobilis* Lour. dengan penambahan 0,5 mg/L BAP menghasilkan 5 tunas. hal ini sesuai dengan dilakukan penelitian ini bahwa pemberian BAP dengan konsentrasi rendah akan menghasilkan jumlah tunas yang lebih banyak dibandingkan dengan penggunaan BAP konsentrasi tinggi. Pada kontrol menghasilkan jumlah tunas lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Hal ini dikarenakan pada perlakuan kontrol tidak adanya penambahan zat pengatur tumbuh pada media yang dibutuhkan untuk inisiasi nodus. Selain itu, kandungan hormon endogen eksplan juga belum mencukupi untuk pembentukan tunas pada nodus. Konsentrasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media merupakan faktor penting dalam

keberhasilan diferensiasi pertumbuhan kultur *in vitro*. Menurut Rahardja dan Wiryanta (2003) penambahan zat pengatur tumbuh dalam media kultur merupakan komponen penting dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

Panjang tunas

Panjang Tunas yang terpanjang dihasilkan pada pemberian 1 mg/L BAP yaitu 1,75 cm. Pertambahan tinggi tunas dipengaruhi dengan adanya penambahan zat pengatur tumbuh, khususnya pemberian zat pengatur tumbuh berupa BAP dengan konsentrasi yang rendah dapat merangsang pertumbuhan tinggi eksplan sebaliknya penambahan zat pengatur tumbuh BAP dengan konsentrasi yang tinggi akan menghambat pertumbuhan tinggi eksplan dan menghasilkan tunas (Bahri 2013). Hal ini diduga pada perlakuan 1 mg/L BAP perkembangan eksplan dan pembentukan organ kultur *in vitro* disebabkan oleh kandungan nitrogen pada media MS.

Kharla dan Bhatla (2018) menyatakan bahwa sitokinin berperan dalam pembelahan sel sedangkan auksin berperan dalam pemanjangan sel. Perlakuan dengan penambahan BAP menghasilkan panjang tunas yang rata – ratanya tidak berbeda jauh.

Tabel 2. Jumlah tunas dan panjang tunas pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh *Benzyl Amino Purine* (BAP) 50 hari setelah tanam

| Kode | Perlakuan BAP mg/L | Jumlah tunas (Tunas) | Panjang tunas (Cm) |
|------|--------------------|----------------------------|---------------------------|
| P1 | Kontrol | 1,00 ± 0,00 ^a | 1,40 ± 0,00 ^{bc} |
| P2 | 1 | 2,50 ± 0,70 ^c | 1,75 ± 0,35 ^c |
| P3 | 2 | 1,66 ± 0,57 ^{abc} | 1,60 ± 0,20 ^{bc} |
| P4 | 3 | 2,00 ± 0,00 ^{bc} | 0,90 ± 0,17 ^a |
| P5 | 4 | 1,00 ± 0,00 ^a | 1,30 ± 0,26 ^{ab} |
| P6 | 5 | 1,33 ± 0,57 ^a | 0,90 ± 0,10 ^a |

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

1. Pertumbuhan dan Morfologi kalus

Tabel 3. Pertumbuhan kalus dan Morfologi Kalus pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh *Benzyl Amino Purine* (BAP) 50 hari setelah tanam

| Kode | Perlakuan | Pertumbuhan kalus | Tekstur kalus | Warna kalus |
|------|------------|-------------------|---------------|-------------|
| A1 | Kontrol | - | - | - |
| A2 | 1 mg/L BAP | - | - | - |
| A3 | 2 mg/L BAP | + | Kompak | Putih |
| A4 | 3 mg/L BAP | + | Kompak | Putih |
| A5 | 4 mg/L BAP | ++ | Kompak | Hijau |
| A6 | 5 mg/L BAP | +++ | Kompak | Putih |

Keterangan : tanda negatif (-) menandakan kalus tidak tumbuh
tanda positif (+) menandakan kalus tumbuh

Pertumbuhan Kalus

Hasil penelitian pertumbuhan kalus pada (Tabel 3) didapatkan hasil bahwa perlakuan kontrol dan 1 mg/L BAP tidak menghasilkan kalus. Ini diduga hormon endogen yang terdapat pada eksplan belum cukup untuk menginduksi kalus dan hanya mampu membentuk tunas. Kemungkinan kandungan auksin endogen dengan sitokinin yang diberikan belum seimbang sehingga kalus tidak terbentuk tetapi hanya membentuk tunas. Hal ini didukung dengan pernyataan *Rosyidah et al.* (2014) yang menyatakan bahwa beberapa sel dalam eksplan dapat beregenerasi menjadi kalus, sedangkan yang lain tidak dapat membentuk kalus dikarenakan tidak adanya zat pengatur tumbuh yang ditambahkan kedalam media kultur seperti pada kontrol yang tidak menggunakan zat pengatur tumbuh. Penambahan sitokinin berupa BAP memberikan respon pada eksplan yaitu menstimulasi terjadinya pembelahan sel dan proliferasi kalus.

Menurut Thomy (2012) penambahan sitokinin dengan konsentrasi yang tinggi akan memacu pembentukan kalus, sedangkan jika penambahan sitokinin dengan konsentrasi yang rendah akan memacu pertumbuhan eksplan beregenerasi membentuk organ. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan bahwa penggunaan 1 mg/L BAP menghasilkan jumlah tunas yang lebih banyak. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi 5 mg/L BAP akan mempercepat pertumbuhan kalus.

Tekstur Kalus

Pada penelitian ini didapatkan kalus dengan tekstur kompak dan berwarna putih. Menurut Andaryani (2010) terbentuknya kalus dengan tekstur kompak dipacu oleh adanya hormon auksin endogen yang diproduksi secara

internal oleh eksplan yang telah tumbuh membentuk kalus tersebut. Kalus kompak mempunyai tekstur padat dan keras, yang tersusun dari sel – sel kecil yang sangat rapat. Tekstur kalus kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak.



Gambar 2. Tekstur kalus pada perlakuan 5 mg/L BAP

Warna kalus putih mengindikasikan bahwa kalus belum mengandung klorofil. Menurut Arianti (2012) kalus yang berwarna putih merupakan jaringan embrionik yang belum mengandung kloroplas. Pertumbuhan kalus akan diikuti dengan perubahan warna kalus. Kalus muda berwarna putih, kemudian warnanya akan berubah menjadi hijau dengan bertambahnya umur dan menandakan adanya klorofil dan telah terjadi fotosintesis.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian perlakuan BAP berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas dan panjang tunas sedangkan waktu muncul tunas tidak berpengaruh nyata terhadap eksplan nodus jeruk kasturi.
2. Perlakuan 1 mg/L BAP menghasilkan jumlah tunas yang paling banyak yaitu 2,50.

Pertumbuhan kalus yang paling banyak adalah pada perlakuan 5 mg/L BAP dengan tekstur kalus kompak yaitu berwarna putih.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Lembaga Project Implementation Unit (PIU) Universitas Riau yang telah membiayai penelitian ini melalui dana Asian Development Bank (ADB) yang tergabung dalam proyek Advance Knowledge and Skills for Sustainable Growth (AKSI) untuk tahun ajaran 2020/2021 yang telah diberikan kepada penulis.

REFERENSI

- Abdullah, M. PE. Chong, and NA. Yunus. 2012. Physical Properties of Musk Lime (*Citrus microcarpa*). World Academy of Science, *Engineering and Technol.* 6: 12 -25. Diakses pada tanggal 20/2/2015.
- Ashraf MF, MA Aziz, N Kemat, and I Ismail. 2014. Effect of cytokinin types Concentrations and their Interaction on *In Vitro* Shoot Regeneration of *Cholorophytum borivilianum* Sant. Electronic Journal of Biotechnology, 17: 275 – 279.
- Bahri, S. 2013. *Pertumbuhan Jeruk Manis (Citrus sinensis) secara In Vitro akibat Pemberian Benzil Amino Purine (BAP)*. [Skripsi]. Program Studi Agroteknologi Sekolah Tinggi Ilmu Pertanian Muhajidin Tolitoli: Tolitoli.
- Bal JS. 1997. *Fruit Growing*. Kalyani Publishers. New Delhi (IN).
- Cheong MW, D Zhu, Sng J, SQ Liu, W Zhou, and P Curan. 2012. Characterisation of Calamansi (*Citrus microcarpa*) part II: Volatailes, physicochemical properties and Non – Volatailes in the Juice. *Scirnse Direct*. 134(2): 696 – 703.
- Hartmann HT, Kester DE, Davies FT, Geneve RL. 2002. *Plant Propagation Principical and Practise Pearson Education Inc*. New Jersey. Upper Saddle River.
- Isda, M.N dan S. Fatonah. 2014. Induksi Akar pada Eksplan Tunas Anggrek *Grammatophylum scirptum* Var. *Citrinum* secara *In Vitro* pada Media MS dengan Penambahan NAA dan BAP. *Al – kaunyah Jurnal Biologi*. 7 (2) : Jamal Y, Praptiwi dan A. Agusta. 2000. Komponen Kimia dan Antibakteri
- Karla G. and S.C. Bhatla. 2018. Cytokinins in Bhatla S.C. and M.A. Lal (Eds). *Plant Physiology, Developmment and Metabolism*. Springer Nature SingaporeLrd,doi.org/10.1007/978-981-13-2023-1.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh Dalam Perbanyak Tanaman Melalui Kultur Jaringan. *Jurnal Agrobiogen*. 7 (1).
- Miah M, Nesawar, S Islam, Hadiuzzaman S. 2008. An Improved Protocol for Multiple Shoot Regeneration from Sedding and Mature Explant of *Citrus macroptera* (M.). *Plant Tiss. Cult & Biotech*. 18 (1): 17 – 24.
- Rahardja, P.C. dan W. Wiryanta. 2003. *Aneka Cara Memperbanyak Tanaman*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Rohmawati S, S Fatonah dan MN Isda. 2015. Multiplikasi Tunas *In Vitro* dari Eksplan Nodus Jeruk Siam (*Citrus Nobilus* Lour) Asal Kampar dengan Penambahan *Benzylaminopurine* (BAP) dan Ekstrak Malt. *Repository University of Riau*.
- Rosyidah, M., Ratnasari., dan Rahayu . 2014. Induksi Kalus Daun Melati (*Jasminum Sambac*) dengan Penambahan Konsentrasi 6 – *Benzyl Amino Purine* (BAP) pada Media MS secara *In Vitro*. *Lentera Bio*. 3 (3) : 147 – 153.
- Thomy, Z. 2012. *Effect of Plant Growth Regulator 2,4 D and BAP on Callus Growth of Plants Producing Gaharu (Aquilaria malaccensis Lamk.)*. Prsiding Semina Hasil Nasional Biologi. Medan, 11 mei 2012.